

**Contribution à l'étude
de la réduction du Bleu de Méthylène
par les tissus animaux et par le lait**

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 7 ~~juin~~ 1933
devant la

FACULTE DE PHARMACIE DE NANCY
pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(MENTION PHARMACIE)

par

TONY JACQUINOT
né à Dijon, le 17 Février 1903

Examinateurs de la Thèse :
MM. LASSEUR, *Président* ;
BOUTARIC, *Juge* ;
GILLOT, *Juge*.

**Contribution à l'étude
de la réduction du Bleu de Méthylène
par les tissus animaux et par le lait**

UNIVERSITE DE NANCY — FACULTE DE PHARMACIE

PERSONNEL ENSEIGNANT

Doyen honoraire

M. BRUNTZ, *, ̄, I ̄, O ̄, ̄, ̄, ̄, Recteur de l'Université

Professeurs honoraires

MM. FAVREL, *, I ̄.

BRUNTZ, *, ̄, I ̄, O

Doyen

M. SEYOT, *, ̄, I ̄, ̄.

Assesseur

M. H.

Professeurs

MM.

GRELOT, *, I ̄, ̄	Pharmacie galénique.
DOURIS, I ̄, ̄	Toxicologie.
PASTUREAU, O *, I ̄	Pharmacie chimique.
SEYOT, *, ̄, ̄, ̄	Histoire naturelle.
LASSEUR, I ̄, ̄	Microbiologie.
GILLOT, I ̄, ̄	Matière médicale.
N	Chimie organique.

Agrégé libre

M. GIRARDET, *, I ̄ Chimie et Toxicologie. |

MM.

Chargés de cours

PREVOST, ̄	Chimie minérale et Minéralogie.
GRELOT, *, I ̄, ̄	Hydrologie.
PASTUREAU, O *, I ̄	Chimie biologique.
DONZELOT	Physique.
VERNIER, I ̄	Zoologie.
RENARD, I ̄	Législation et Déontologie.
GILLOT, I ̄, ̄	Pharmacotechnie.
CORDEBARD, *, I ̄	Analyse chimique.
SEYOT, *, ̄, ̄, ̄	Hygiène.

MM.

Chefs de travaux

VERNIER, I ̄	Microbiologie et Parasitologie.
MEUNIER	Pharmacie.
CORDEBARD, ̄, I, ̄	Chimie et Analyse chimique.
STEIMETZ	Micrographie.
DONZELOT (chargé de travaux)	Physique.
MICHON (chargé de travaux)	Chimie biologique et Toxicologie.

Secrétariat

M. E. TRIBOLET, I ̄ Secrétaire. |

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

Contribution à l'étude de la réduction du Bleu de Méthylène par les tissus animaux et par le lait

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Mai 1933
devant la

FACULTE DE PHARMACIE DE NANCY

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

(MENTION PHARMACIE)

par

TONY JACQUINOT

né à Dijon, le 17 Février 1903

Examineurs de la Thèse

} MM. LASSEUR, *Président*;
BOUTARIC, *Juge* ;
GILLOT, *Juge*.

Imprimerie GEORGES SUBERVIE
21, Rue de l'Embergue, 21
RODEZ



A LA MÉMOIRE DE H.-F. LEVEQUE

A MA GRAND-MÈRE

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MONSIEUR ET MADAME L. PETIT

A MON AMI LE DOCTEUR PIERRE LECULIE

A MON MAÎTRE

Monsieur le Professeur A. BOUTARIC

Professeur à la Faculté des Sciences de Dijon

*Qu'il veuille bien recevoir l'assurance
de notre respectueuse et sincère grati-
tude pour l'intérêt qu'il nous a porté en
dirigeant notre travail.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Ph. LASSEUR

*Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie de Nancy*

*Qui nous a fait le grand hon-
neur d'accepter la Présidence de
cette thèse.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GILLOT

Hommage respectueux.

INTRODUCTION

Les oxydations qui se produisent dans l'organisme relèvent, en définitive, de trois phénomènes différents.

Les unes sont dues à la fixation de l'oxygène provenant de l'air et charrié par le sang ; d'autres, sont consécutives à la décomposition de l'eau oxygénée dans les tissus ; enfin, d'autres oxydations sont liées à la réduction préalable de certaines substances oxygénées ; la réduction aboutit ainsi à une oxydation indirecte.

L'oxydation directe par l'oxygène de l'air ne constitue pas un processus général et universel. Pasteur fit connaître l'existence de bactéries anaérobies qui, comme tous les êtres vivants, produisent des oxydations, mais seulement à la faveur de réductions préalables. Armand Gauthier et Ehrlich ont montré que toutes les cellules animales et végétales possèdent le pouvoir réducteur. Ainsi, comme l'a noté

M. le Professeur Roger (1), « l'anaérobiose est le phénomène fondamental et universel qui ne comporte pas d'exception ; l'aérobiose, c'est-à-dire l'oxydation directe par l'oxygène de l'air, est une fonction surajoutée, une véritable fonction de luxe, mais qui a fini par l'emporter au point de devenir prépondérante et d'être absolument indispensable au maintien de l'existence ». Le pouvoir réducteur des cellules conserve, cependant, une grande importance puisqu'il fournit le cinquième environ de l'oxygène utilisé par les êtres supérieurs.

Dans ce travail, après avoir analysé les diverses recherches antérieures relatives au pouvoir réducteur des tissus animaux, nous avons tout particulièrement étudié les propriétés réductrices de ces tissus vis-à-vis du bleu de méthylène en précisant l'influence qu'exercent sur le phénomène les substances étrangères les plus diverses : antioxygènes, acides, bases, sels alcaloïdes, sérums.

Les propriétés réductrices du lait cru et frais vis-à-vis du bleu de méthylène en présence du formol étant généralement considérées comme une manifestation du pouvoir réducteur des cellules, il nous a paru intéressant d'étudier ensuite comment les

(1) H. ROGER : *Recherches expérimentales sur le pouvoir réducteur des tissus*. « Revue de Médecine », 38^e année, 1921, n° 1.

diverses substances, dont nous avons envisagé l'influence dans le cas des tissus animaux, intervenaient dans le cas du lait.

Avant d'aborder cette étude qu'il nous soit permis d'exprimer toute notre gratitude à M. le Professeur Boutaric pour les nombreux conseils qu'il nous a donnés et l'intérêt qu'il nous a constamment porté en dirigeant notre travail.

Nous tenons également à remercier M. le Professeur Lasseur qui a bien voulu s'intéresser à ce travail, nous communiquer les résultats encore inédits des propres recherches qu'il a poursuivies sur la réduction des matières colorantes par les bactéries et qui nous a fait le très grand honneur d'accepter de présider le Jury de notre thèse.

Nous souhaiterions que notre modeste travail puisse s'insérer dans l'ensemble des si belles recherches qui s'effectuent au laboratoire de microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy sous l'active impulsion de M. le Professeur Lasseur.

PREMIERE PARTIE

Chapitre Premier

EXPOSE DES RECHERCHES ANTERIEURES

Travaux de De Rey Pailhade :

Bien des hypothèses ont été proposées pour expliquer le pouvoir réducteur des tissus. Dès 1888 De Rey Pailhade (1) constatait que beaucoup de tissus vivants jouissaient de la propriété de transformer le soufre en hydrogène sulfuré. Pour lui le pouvoir réducteur des tissus devait être attribué à la molécule protidique dans laquelle certains atomes d'hydrogène ont une labilité particulière et il appela la substance provoquant la formation d'hydrogène sulfuré « philothion ». Il en établit la présence chez les infiniment petits (levure de bière et bacille de la

(1) DE REY-PAILHADE : *C.R. Ac. Sc.* CVI, p. 1683, 1888 ; — *C. R. Soc. Biol.*, 3 avril 1897. Sur les ferments oxydants. Note sur l'existence simultanée dans les tissus animaux du philotion et de l'oxydase chargée de les oxyder ; — *C. R. S. Bio.*, 26 mars 1898 : Démonstration du pouvoir réducteur des tissus au moyen des tissus desséchés.

tuberculose), dans le règne végétal (germes et cotyledons d'un grand nombre de graines) et dans le règne animal (acéphales, poissons et mammifères).

Frappé de la présence constante du philothion à côté des oxydases, De Rey Pailhade démontrait en 1897 que le philothion est un produit formé par l'organisme aux dépens des aliments pour être comburé à l'aide d'un ferment d'oxydation. Pour cet auteur les tissus seraient constitués par des substances à actions chimiques opposées : des matières oxydantes oxydases ou ferments d'oxydation et des matières réductrices ou oxydables, ferments d'hydrogénation, philothion, le conflit incessant de ces substances entre elles entretiendrait la vie. Les réductions sont couplées à des oxydations constituant des systèmes d'oxydo-réduction.

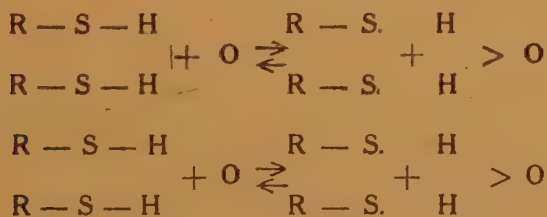
Travaux de Gola, Heffter et Arnold

Des travaux ultérieurs allaient conduire à attribuer dans ces phénomènes d'oxydo-réduction cellulaire un rôle important aux amino-acides sulfurés. Gola en 1903 montra la présence dans les tissus en voie de putréfaction d'une substance renfermant le groupe S.H. et donnant la réaction au nitroprussiate.

Heffter signale dans certaines substances telles que la cystéine et l'acide thiolactique un pouvoir réducteur analogue à celui reconnu aux tissus animaux.

Par la réaction au nitro prussiate il établit que ces tissus contiennent certains éléments à groupe sulfuryle et il entrevoit l'importance possible de ce radical dans les phénomènes d'oxydation cellulaire.

Enfin Arnold observant que certains protides donnaient la réaction au nitro-prussiate conclut à la présence de cystéine dans leur molécule. Les propriétés de cette substance expliquent d'ailleurs l'inconstance de la réaction chez les protides. En effet celle-ci ne peut avoir lieu que si le soufre est engagé dans la molécule sous la forme du radical S. H. et non du reste S-S. Or sous l'influence de l'air ou de l'oxygène la cystéine est transformée en cystine, transformation exprimée par la formule suivante en représentant la cystéine par R. S. H et la cystine par R-S-S-R.

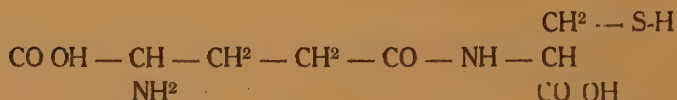


Cette formule exprimant une réaction reversible d'oxydo-réduction.

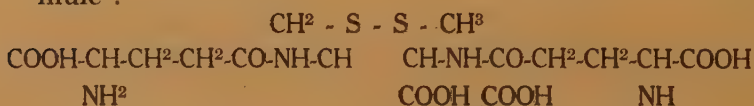
Dans certains protides la cystéine serait stable, dans d'autres la forme disulfure existe seule, le système cystéine-cystine se comporterait comme cette dernière variété.

Isolement et constitution du glutathion (1)

Il restait à isoler des polypéptides sulfurés susceptibles de donner des réactions reversibles semblables à celles que nous venons d'exposer. Ce n'est qu'en 1921 que F. Hopkins réussit à isoler un corps satisfaisant à ces conditions. C'est un dipeptide, formé de l'union d'une molécule d'acide glutamique et d'une de cystéine, auquel il put assigner la formule :



Ce corps nommé par lui « glutathion réduit » donnerait par oxydation le « glutathion oxydé » de formule :



C'est à partir d'une macération aqueuse de levure de bière, traitée successivement par des réactifs déféquants : acétate neutre de plomb, sulfate acide de

(1) F.-G. HOPKINS : *Biochem. Journal*, XV, p. 286-LIV, 1921 ; — F.-G. HOPKINS et M. DIXON : *Biochem. Journal*, 2IV, p. 507, 1922 ; — M. DIXON et QUASTEL : *Chem. Soc.*, CXXIII, p. 2943, 1923 ; — S.-H. QUASTEL, C.-P. STEWART et H.-E. : *Biochem. Journal*, XVII, p. 586, 1923 ; — D.-C. HARRISSON : *Bioch. Journal*, XVIII, p. 109, 1924 ; — H.-G. HOPKINS : *Bioch. Journal*, XIX, p. 787, 1925.

mercure, acide phototungstique et sulfate ou hydrate de cuivre qu'Hopkins réussit à isoler le glutathion.

La liqueur, après ces défécations successives contient le glutathion à l'état de combinaison cuivrique, celle-ci est décomposée par l'hydrogène sulfuré et le dipeptide est obtenu cristallisé, soit sous la forme réduite soit sous la forme oxydée. Pour obtenir la forme oxydée on fait passer l'air dans la solution obtenue jusqu'à disparition de la réaction au nitroprussiate, on concentre puis on précipite par l'alcool absolu. Pour obtenir la forme réduite on fait agir soit le zinc et l'acide chlorhydrique, soit le bisulfite de soude, la liqueur est concentrée à l'abri de l'oxygène puis additionnée d'alcool.

Le glutathion oxydé, qui est la forme la plus stable est une poudre blanche fondant à 185°, de pouvoir réducteur — 38°, 3, soluble dans l'eau, insoluble dans les solvants organiques usuels.

G. P. Stewart et H. E. Turncliffle devaient obtenir ultérieurement le glutathion oxydé, sous la forme levogyre et sous une forme partiellement racémisée, par synthèse. Les principales phases de cette synthèse, faite à partir de l'acide glutamique, donnent successivement les produits suivants : l'acide hydantoïne propionique, le diether de la dihydantoïne pro-

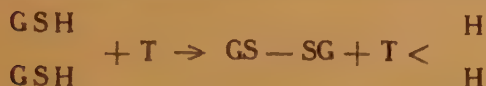
pionyl cystine, puis le dérivé uraminé, puis la diglutaminyl cystine ou glutathion oxydé.

Propriétés du glutathion. — Le système glutathion réduit $\rightleftharpoons$ glutathion oxydé est réversible comme le système cystéine $\rightleftharpoons$ cystine, la transformation glutathion oxydé + glutathion réduit s'effectuant d'ailleurs sous l'influence de réducteurs plus faibles que ceux nécessaires à la transformation de la cystine en cystéine.

La réaction du milieu a une influence très nette sur cette transformation réversible; peu auto oxydable autour du point neutre le glutathion le devient facilement à $P.H = 7,4$ voisin du $P.H$ des tissus. Il en résulte que dans les tissus le glutathion est presque toujours auto oxydable car d'une part il y existe le plus souvent sous la forme réduite, et d'autre part sa forme disulfure est ramenée à la forme Thiol sous l'influence même des tissus comme le montrent les faits suivants :

Le bleu de méthylène décoloré par le glutathion réduit ne l'est pas par le glutathion oxydé. Si on épuise un tissu à l'eau froide il ne décolore plus le bleu de méthylène, mais si on le suspend dans une solution de concentration ionique convenable et que l'on y ajoute une solution N/500 de glutathion oxydé le bleu de méthylène est décoloré. C'est que la forme

disulfure a été réduite par le tissu lavé, alors qu'il n'a plus d'action sur le bleu de méthylène et il s'établit un système qui, en anaerobiose, réduit le bleu en sa leucobase. Réaction que l'on peut exprimer :



T étant le bleu de méthylène et G.S.H. le glutathion.

Le mécanisme de cette réaction s'explique d'ailleurs à la lumière de la théorie de l'oxydation exposée en 1913 par Wieland (1) et qui se résume dans les deux hypothèses suivantes :

1°) Il y a identité absolue entre les ferments oxydants et les ferments réducteurs;

2°) L'hydrogène est l'agent essentiel des oxydations et des réductions.

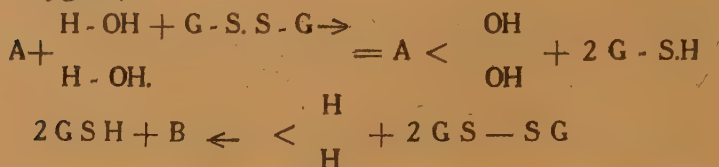
Ainsi dans toute oxydation et réduction il y aurait trois corps en présence :

- 1° un donateur d'hydrogène (Donator);
- 2° un activateur d'hydrogène (aktivator);
- 3° un accepteur d'hydrogène (akzeptator).

Et le glutathion fonctionnant de la même manière dans les conditions aérobies nous pouvons exprimer les réactions précédentes de la façon suivante en

(1) D. Ch. G., 1913, T. 46, p. 3327. — Voir aussi BATELLI F. et STERN : Le Mécanisme d'action des ferments oxydants et des ferments réducteurs, *Arch. int. Physiol.*, 1921, T. 18, pp. 403-418.

désignant par A le constituant de la cellule, par B l'acceptateur d'hydrogène (bleu de méthylène ou oxygène).



En résumé il s'effectue en même temps une oxydation du constituant cellulaire et une transformation du glutathion oxydé en glutathion réduit, celui-ci est ensuite ramené à sa forme dissulfure en même temps que le bleu de méthylène ou l'oxygène s'empare de l'hydrogène.

Il existe des processus thermostables pour les oxydations et les réductions et l'expérience exposée précédemment d'une décoloration du bleu de méthylène par un tissu lavé grâce à l'addition de glutathion s'effectue même lorsque le tissu employé est chauffé à 100° ou même épuisé à l'eau bouillante (1).

Répartition du glutathion dans les organes vivants.

— Le tableau I résume les résultats obtenus par le Professeur Blanchetière et ses collaborateurs quant à la répartition du glutathion dans l'organisme. (1).

(1) Les travaux d'Hopkins et de ses élèves, relatifs à l'isolement et aux propriétés de glutathion, ont été remarquablement exposés par FABRE : « Etude des systèmes d'oxydo-réduction », *Journal Ph. et Ch.*, 1929, pp. 525-542.

(1) A. BLANCHETIÈRE : *Le Progrès médical*, XLVI.

TABLEAU 1

Répartition du glutathion dans l'organisme

(Teneur en milligrammes pour 100 de tissu (chien)

Glutathion réduit.

Chiffres extrêmes trouvés.	
Organe	245 — 396
Foie	74 — 87
Poumon	74 — 87
Rate	193 — 215
Rein	264 — 306
Cœur	103 — 136
Muscles adducteurs	67 — 81
Muscle droit	58
Surrénale	374 — 585
Thyroïde	143 — 293
Pancréas	201 — 234
Ovaires	143 — 324
Testicule	255 — 266

Travaux de M. le Professeur Roger (2)

Les premiers travaux exposés par Hopkins relatifs au glutathion datent de 1921; la même année M. le Professeur Roger publiait d'autre part un résumé de ses recherches expérimentales sur le pouvoir réduc-

p. 1717, 1926 ; — A. BLANCHETIÈRE et BINET : *C.R.S. Biolo.*, XCIV, p. 494, 1926 ; XCIV, p. 1227, 1926 ; XCV, p. 558, 1926 ; XCV, p. 621, 1926 ; XCV, p. 1098, 1926.

(2) H. ROGER : *Revue de Médecine* : « Recherches expérimentales sur le pouvoir réducteur des tissus » ; n° 1, 38^e année, 1921, p. 1.

teur des tissus. Il appréciait celui-ci par la décoloration du bleu de méthylène suivant le mode opératoire suivant :

Les tissus utilisés prélevés sur des animaux que l'on venait de sacrifier étaient transformés en bouillie au moyen d'un broyeur, on ajoutait un peu d'eau contenant 4 à 5 pour 1000 de bicarbonate de soude, puis on versait quelques gouttes d'une solution de bleu de méthylène à 2/100. Le mélange était placé dans une étuve à 38°, une décoloration se produisait variable avec les quantités de tissu et de bleu en présence, et dépendant du pouvoir réducteur du tissu utilisé. La réaction est considérée comme terminée quand il ne reste plus qu'un anneau bleu à la surface libre du liquide, au contact de l'air. Si l'on agite alors fortement le tube, le liquide se recolore par oxydation, puis se décolore à nouveau au repos.

On pouvait supposer toutefois que le phénomène n'était pas tout à fait semblable en dedans et en dehors de l'organisme. En effet on sait, depuis les travaux d'Achard et Castaigne que si on injecte une solution de bleu de méthylène chez un animal ou chez un homme, les urines recueillies ensuite sont colorées de bleu. Mais une partie seulement du réactif passe sans modification et au début de l'expérience seulement, la matière colorante étant en excès et ne pouvant être complètement réduite. La concentra-

tion diminuant le bleu est éliminée sous deux états différents :

1°) un leucodérivé qui redevient bleu par simple agitation à l'air.

2°) un chromogène qui exige pour s'oxyder qu'on chauffe l'urine après l'avoir additionnée d'acide acétique.

Aussi la recoloration du mélange dans les expériences de Roger pouvait faire supposer qu'en dehors de l'organisme la réduction aboutissait simplement à la production d'un leuco-dérivé sans formation de chromogène.

L'expérience suivante montre qu'il n'en est rien. On plonge dans l'eau bouillante un tube contenant un mélange décoloré de foie et de bleu. On passe ensuite le mélange sur un filtre à larges mailles, la matière colorante et ses dérivés sont fixés par le tissu et on obtient un liquide jaune verdissant par agitation à l'air.

Si l'on y verse quelques gouttes d'acide acétique et si on chauffe ensuite, le liquide prend une coloration vert intense. On peut donc conclure qu'en dehors de l'organisme le bleu donne du chromogène, mais que celui-ci se réoxyde au contact de l'oxygène, réaction reversible déjà signalée dans les travaux antérieurs que nous avons exposés.

Le phénomène de décoloration est donc semblable

en dehors et en dedans de l'organisme et par le mode opératoire décrit précédemment on a un moyen d'apprécier facilement le pouvoir réducteur des tissus.

Les tissus employés par le Professeur Roger étaient prélevés sur différents animaux : cobayes, lapins, chiens, veaux, moutons.

Le plus souvent il utilisait une macération de tissus dans la glycérine, qu'on exprimait sur un linge. L'adjonction de bicarbonate de soude qui n'est pas indispensable si l'on utilise un tissu frais est nécessaire pour alcaliniser le milieu quand on emploie des tissus conservés dans la glycérine.

Une première série d'expériences permet tout d'abord à M. le Professeur Roger de comparer les pouvoirs réducteurs des tissus de différents organes et de différentes espèces animales.

L'animal était sacrifié par hémorragie, on prélevait 4 grammes de chaque organe ou tissu, on coupait la portion isolée en fragments très petits, on ajoutait 4 cm³ d'eau bicarbonatée à 5/1000 et 3 gouttes de bleu de méthylène à 2/100. L'expérience était faite dans une étuve à 38°.

Le tableau 2 résume les résultats obtenus par H. Roger.

Pouvoir réducteur de différents organes

TABLEAU 2. — (Chien)
Temps de réduction

	Aussitôt après la mort										4 heures après la mort.			7 jours après		
Nombre de gouttes	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Cerveau	7 ^m	5 ^m	6 ^m	7 ^m	7 ^m	7 ^m	9 ^m	7 ^m	6 ^m	7 ^m	7 ^m	6 ^m	6 ^m	2 heures.	2 h. 30.	35. 45. 45
Cœur	15.	29.	30.	30.	30.	30.		24.	40.	43.	9.	12.	12.	4 heures.	1 h. 20.	1 h. 10. 1 h. 40
Foie	12.	11.	9.	9.	11.	11.	14.	9.	9.	12.	24.	40.	43.	30.	40.	45.
Muscles	15.	24.	24.	24.	24.	24.		30.	24.	30.	30.	24.	40.	30.	24.	40.
Pancréas	30.	24.	30.	30.	30.	30.		30.	24.	40.	60.	30.	24.	30.	24.	30.
Poumons	30.	24.	30.	30.	30.	30.		7.	6.	7.	7.	10.	11.	14.		
Rate	7.	6.	7.	7.	10.	11.	14.	7.	6.	7.	11.	14.				
Rein																

De cette première série d'expériences se dégagent les conclusions suivantes :

1°) Le pouvoir réducteur s'exerce en général plus rapidement à la deuxième adjonction de bleu, ce résultat s'expliquerait par l'attraction que les matières fermentescibles exercent sur les ferments. Le bleu dégage des tissus une certaine quantité de produits actifs qui diffuse plus ou moins vite autour des particules solides et se trouve ainsi plus apte à agir.

2°) Après 24 ou 48 heures le pouvoir réducteur est notablement affaibli, le ferment hépatique est de beaucoup le plus résistant chez tous les animaux.

3° Les diverses parties de l'organisme peuvent être classées en deux groupes :

celles qui ont un pouvoir réducteur élevé : foie, rein, cerveau.

celles qui ont un pouvoir réducteur faible : poumons et muscles (y compris le cœur).

Enfin en faisant réagir sur le bleu de méthylène des macérations de tissus centrifugées de manière à pouvoir étudier comparativement le pouvoir réducteur du liquide et celui des matières délayées dans une quantité d'eau égale à celle qu'on a retirée, M. Roger constata les résultats suivants :

Le foie, la rate, les reins constituent un premier groupe de tissus laissant diffuser la substance réductrice.

Dans un second groupe (muscles, y compris le cœur) la matière réductrice est retenue complètement ou presque complètement.

On peut se demander si le foie et le rein n'abandonnent pas normalement au sang du ferment réducteur, dans l'affirmative la quantité en serait minime car le sérum sanguin, pas plus que le sang total ou les caillots, ne décolore le bleu de méthylène.

Pour étudier l'influence de la température sur le phénomène M. Roger utilisa le tissu hépatique, le foie étant la glande qui possède l'action réductrice la plus marquée.

Dans le tableau 3, résumant quatre expériences faites avec du foie de lapin, on indique pour chacune d'elles le nombre de gouttes introduites dans chaque tube et l'activité du témoin mesurée par le temps nécessaire à la réduction du bleu.

TABLEAU 3

TABLEAU 3
Influence de la température sur le pouvoir réducteur des tissus (H. Roger)

	Expérience 1	Expérience 2	Expérience 3
Nombre de gouttes	3	3	3
Témoins	12 m.	17 m.	19 m.
Chauffés à 60° : 30 m.....	22 m.	35 m.	40 m.
2 h.....	38 m.	1 h. 05	1 h. 15
Chauffés à 70° : 15 m.....	30 m.	1 h.	1 h. 50
30 m.....	50 m.		2 h. 30
1 h.....			3 h. 20
2 h.....	2 h.	2 h. 30	
4 h.....			
Chauffés à 80° : 15 m.....	2 h.		
2 h.....			
Chauffés à 100° : 15 m.....	2 h.		7 h. 50
2 h.....			

Expérience 4

Durée du chauffage

	0 m.	15 m.	30 m.	1 h.	2 h.	4 h.
Témoin réd. en	50 m.	—	—	—	—	—
50° » »		1 h. 12	1 h. 28	1 h. 36	1 h. 50	2 h. 20
60° » »		1 h. 42	1 h. 50	2 h. 20	2 h. 40	3 h.
70° » »		2 h. 50	4 h. 30	11 h.	11 h.	11 h.
80° » »		11 h.	11 h.	11 h.	11 h.	11 h.
100° » »		11 h.	11 h.	11 h.	11 h.	11 h.

Si l'on effectue les expériences à la température ordinaire mais sur des extraits préalablement chauffés à des températures différentes on constate que le pouvoir réducteur est notablement diminué vers 50 et 60°; après un chauffage d'une heure à 70° il tombe à un minimum invariable.

Si l'on effectue les expériences à des températures différentes mais sur des extraits n'ayant pas subi de chauffage préalable, on constate, comme le montre le tableau 4, que la réduction est d'autant plus rapide que la température est plus élevée, à 100° elle est presque instantanée.

TABLEAU 4. — (Lapin)

**Influence de la température
sur le pouvoir réducteur des tissus (H. Roger)**

Nombre de gouttes : —	Foie.				Muscles.		
	2.	8.	20.	40	2.	8.	20.
35° 20 m.					32 m.		
65° 3 m.					12 m.		
100° 0 m. 30 s.	1 m.	2 m.	7 m.		12 m.	6 m.	12 m.

Des expériences précédentes le Professeur Roger tire les conclusions suivantes :

« La persistance du pouvoir réducteur malgré de fortes élévations de température éloigne l'idée d'une

action zymotique, nous ne connaissons pas de ferments résistant à l'ébullition : l'albumine exercerait donc une action réductrice d'ordre chimique.

» Toutefois à la température du corps entre 35° et 40° les tissus ou leurs extraits réduisent rapidement le bleu de méthylène; après chauffage ils le réduisent avec une grande lenteur, l'on est ainsi amené à une seconde conclusion : le chauffage abolit une propriété d'ordre biologique, le tissu vivant ne possède pas un pouvoir réducteur que le chauffage fait disparaître mais il permet à une propriété chimique de se manifester à la température du corps. Le ferment intervient pour qu'à la température du corps la réduction se fasse aussi facilement que si la température était plus élevée.

» On connaît d'ailleurs une action zymotique analogue : le suc gastrique hydrolyse les protéiques et les transforme en albumoses et peptones, l'acide chlorhydrique est l'agent de cette transformation. Mais il ne l'accomplit rapidement que si on le fait agir à une température élevée.

» La pepsine intervient non pour hydrolyser les albumines, mais pour permettre à l'acide chlorhydrique de les hydrolyser facilement à la température du corps. Dans les deux cas, le ferment permet à l'agent chimique d'intervenir plus rapidement.

» En résumé le pouvoir réducteur est une propriété

chimique des albumines même coagulées, le ferment intervient pour abaisser la température nécessaire à la rapide manifestation du pouvoir réducteur ».

Mais à quelle albumine attribuer le pouvoir réducteur des tissus ?

C'est pour répondre à cette question que M. Roger fut conduit à rechercher l'influence respective des globulines et des serines. Les expériences furent faites avec du tissu hépatique frais; après l'avoir réduit en pulpe on le faisait macérer pendant 24 heures dans de l'eau bicarbonatée, on exprimait sur un linge, on laissait reposer encore 24 heures, on filtrait sur du papier ou l'on soumettait à une centrifugation prolongée; le liquide obtenu était placé sur la membrane d'un dialyseur. La disparition des sels entraînait alors la précipitation des globulines qu'on recueillait sur un filtre, lavées minutieusement à l'eau distillée elles étaient reprises dans l'eau salée alcaline.

Dans certains cas la précipitation était facilitée par le passage d'un courant de gaz carbonique ou par l'adjonction d'une trace d'acide chlorhydrique.

Les globulines reprises dans l'eau alcaline ont conservé le pouvoir réducteur mais agissent lentement; dès qu'on les dilue leur action n'est plus apparente. La série inactive par elle-même possède une certaine

action zymosthénique banale, le sérum sanguin agissant aussi bien que la sérine hépatique.

Enfin les substances qui traversent la membrane n'ont pas de pouvoir réducteur.

Les globulines du tissu hépatique possèdent le pouvoir réducteur mais leur action est faible et doit être complétée par l'influence des sérines.

Travaux de M. Jh. Vallot (1)

A la suite des recherches de M. le Professeur Roger, M. Vallot se proposa d'étudier l'influence respective des rayons lumineux et calorifiques sur l'intensité du pouvoir réducteur des tissus appréciés par la décoloration du bleu de méthylène.

Le mode opératoire était le suivant :

Les extraits glycérisés étendus d'une solution de bicarbonate de soude et additionnés de bleu de méthylène étaient versés dans des tubes à expérience accompagnés d'un tube témoin préparé de même et contenant un thermomètre. L'activité de la réduction étant en raison inverse du temps nécessaire à la décoloration, si on exprime par 1000 la réduction qui aurait lieu en une minute et par N le nombre de minutes d'une réduction, on a :

$$\text{activité} = \frac{1000}{N}$$

(1) J. VALLOT : C. R. A. Sc., T. 173, p. 1196, année 1921.

Les résultats des expériences ainsi conduites furent les suivants :

Si l'on considère l'influence de la chaleur dans l'obscurité, on constate que l'activité de la réduction est considérable aux environs de la température du corps humain, mais elle diminue de plus en plus rapidement quand la température s'abaisse.

A la lumière diffuse les résultats sont les mêmes qu'à l'obscurité, la lumière diffuse n'a pas d'action appréciable sur l'activité de la réduction.

A la lumière électrique les expériences furent effectuées dans les conditions suivantes : on employait une lampe à incandescence 1/2 watt de 50 bougies à la distance de 15 cm. La radiation en calories n'était que de 0,05. Dans les conditions à 20°, l'activité a été de 20 à la lumière électrique contre 13 à l'obscurité. Le rapport est de 1,5, soit une augmentation de moitié causée par la lumière.

« Le soleil fournissant à la fois chaleur et lumière il est difficile de séparer ces deux éléments pour connaître l'influence de chacun d'eux mais la chaleur seule peut être expérimentée dans l'obscurité de l'étuve et on obtiendra ensuite l'influence lumineuse par la différence des résultats obtenus au soleil à égale température.

» Chaque série de comparaisons doit être faite en peu de jours et sur une préparation d'un même tissu,

afin d'éviter les différences provoquées, soit par des tissus différents, soit par le vieillissement d'un même tissu ».

Dans ces conditions la radiation solaire mesurant en calories de 1,05 à 1,25 les expériences montrent que dans les pulpes soumises à la radiation solaire l'activité diminue en même temps que la température mais moins rapidement que dans l'obscurité.

Réduction du bleu de méthylène par les tissus végétaux

C'est sur des tissus animaux exclusivement, à l'exception cependant de certaines expériences de de Rey-Pailhade, que furent effectués les divers travaux que nous venons d'exposer.

Signalons toutefois que la réduction du bleu de méthylène par les tissus végétaux fut étudiée d'autre part dans des recherches particulières par Lütz et par Thunberg.

Le premier (1) constata la décoloration du bleu de méthylène par les ferments solubles sécrétés par les Hyménomycètes, cette décoloration étant retardée par l'addition au mélange de naphthol et de gaïacol. En 1910, puis en 1929, Thunberg (2) exposait

(1) LUTZ : *C.R. Ac. Sciences*, T. 183, 1926, p. 918.

(2) THUNBERG (*Skand : Arch. f. Physiol.*) T. 24, p. 57, 1910 ; — *Biol. Zeits.*, T. 206, p. 109, 1929.

une très curieuse application de la décoloration enzymatique du bleu de méthylène pour la recherche et le dosage de l'acide citrique dans les matières organiques.

Le principe est le suivant :

Il existe dans les semences du concombre cultivé (*cucumis sativus*) un enzyme dénommé par Thunberg citricodeshydrogénase capable de deshydrogéner l'acide citrique, d'activer cet hydrogène et de fixer cet élément sur le bleu de méthylène en donnant un leucobase. Pour doser l'acide citrique dans un liquide, il suffit de déterminer la quantité minima de ce liquide nécessaire pour produire dans le plus court délai, la décoloration du système bleu de méthylène-extrait phosphaté de semences de concombres.

Cette méthode permet de caractériser et de doser, dans les tissus et les liquides organiques, des quantités infimes d'acide citrique, elle est particulièrement précieuse en biochimie.

Travaux de M. le Professeur Lasseur (1)

M. le Professeur Lasseur et ses collaborateurs ont étudié la réduction du bleu de méthylène, du bleu de crésyle, de la thionine, et du bleu de nil, par des corps microbiens rigoureusement débarrassés de toute

(1) Ph. LASSEUR (inédit).

trace de milieu nutritif par cinq lavages à l'eau distillée et provenant d'espèces bactériennes différentes. Dans leurs conditions d'expériences les auteurs n'ont jamais observé de réduction des colorants pour la zone de PH compris entre $\text{PH} = 2$ et $\text{PH} = 4$. Le bleu de crésyle et la thionine sont déjà réduits à partir de $\text{PH} = 4$. La réduction du bleu de méthylène débute à $\text{PH} = 5,25$. Avec le bleu de nil c'est à $\text{PH} = 6$ que le phénomène commence à se manifester.

Les auteurs ont généralement travaillé dans une zone de PH variant de $\text{PH} = 2$ à $\text{PH} = 8$. (1)

(1) Beijerinck avait démontré le pouvoir réducteur des bactéries: Sur la formation de l'hydrogène sulfurée dans les canaux et le génie nouveau ; *Aérobacter*, p. 24. *Verzamelde Geschriften Van M. W. Beijerinck ter gekgenheid Van Zijn-70 sten Verjaardag met Medewerking der Nederlandsche regeering milgegeven door zijne Vrienden en Vereerders-Vierde Deel Delft. MDCCCXXI* ; — Phénomènes de réduction produits par les Microbes (*Arch. des Sciences exactes et naturelles. Haarlem, série II, tome IX, 1904, pp. 131-157*).

Chapitre II

INFLUENCE DES SUBSTANCES ANTIOXYGENES SUR LA REDUCTION DU BLEU DE METHYLENE PAR LES TISSUS ANIMAUX

1^o) Objet de ce chapitre et méthodes utilisées

Nous nous sommes demandé tout d'abord si les réactions d'oxydo-réduction biologiques dans les tissus sont régies par les mêmes conditions et reconnaissent les mêmes actions empêchantes que les réactions d'oxydo-réduction strictement chimiques.

C'est pourquoi nous avons été conduits à étudier l'influence sur le phénomène des substances signalées dans leurs belles recherches par Ch. Moureu et Ch. Dufraisse (1) comme antioxygènes.

Nous avons suivi pour cette étude un mode opéra-

(1) MOUREU et DUFRAISSE : C.R., t. 174, 1922, p. 258; t. 175, 1922, p. 127 ; t. 176, 1923, pp. 624 et 797 ; t. 178, 1924, pp. 824, 1497 et 1861 ; tome 179, 1924, p. 237 ; t. 1229 ; — *Bulle. Soc. Chim.*, 4^e série, t. 31, 1922, p. 1152; — *Annales de la Soc. espan. de fisica y quimica*, octobre 1922.

toire très voisin de celui indiqué par M. Roger. Le tissu utilisé (généralement le foie de porc et dans une expérience le foie de cobaye), après avoir été haché et broyé au mortier, additionné d'un poids égal de glycérine est broyé à nouveau en présence de ce liquide et laissé en macération douze heures, puis tamisé à travers une toile fine.

Dans un tube à essai on introduit 2 cm³ d'une solution de bicarbonate de soude à 5 grammes par litre, et une goutte (mesurée au compte-goutte de Duclaux) d'une solution de bleu de méthylène à dix grammes par litre. Dans les tubes destinés à servir de témoins, on ajoute un centimètre cube d'eau; afin d'étudier l'action exercée par la présence de diverses substances étrangères on introduit dans les autres 1 cm³ d'une solution de cette substance à 0 gr. 35 par litre, en sorte que dans le volume total du tube à essai cette substance se trouve à la dose d'environ 2 gr. 9 par litre. Après agitation, le tube est disposé dans un thermostat et on note le temps nécessaire pour que le mélange soit entièrement décoloré et ne présente plus qu'un anneau bleu à la surface du liquide.

Résultat des expériences

Certaines de nos expériences ont été faites à la température de 38°, comme celles de M. Roger, mais

le plus souvent nous avons opéré à une température très voisine de celle du laboratoire. A cette température les vitesses de réduction sont plus faibles qu'à 38° mais les résultats généraux fournis par l'introduction dans le mélange, de substances étrangères, restent les mêmes.

Dans les tableaux ci-contre chaque valeur est la moyenne de deux déterminations concordantes, les diverses séries ont été faites à des jours différents, avec des échantillons de foie de porc différents et ne sont pas absolument comparables entre elles.

TABLEAU 5
Influence des antioxygènes
Température 17°

Substances ajoutées.	Durées de réduction.
Témoins	35 minutes
Camphre	53 »
Soufre	55 »
Hyposulfite de soude	60 »
Hydroquinone	70 »
Tanin	8 heures

TABLEAU 6. — (Foie de cobaye)
Influence des antioxygènes
Température 17°

Témoins	32 minutes
Camphre	52 »
Soufre	54 »
Hyposulfite de soude	59 »
Hydroquinone	70 »
Tanin	6 heures 37'

TABLEAU 7. — (Foie de porc)

Influence des antioxygènes

Température 15°

Substances ajoutées.	Vitesse de réduction.
Témoins	33 minutes
Camphre	53 »
Soufre	55 »
Pyridine	66 »

TABLEAU 8

Influence des antioxygènes

Température 17°

Témoins	32 minutes
Salicylate de méthyle	53 »
Phénol	68 »
Gaïacol	81 »
Iodure de K	Précipitation.
Cyanure de mercure	108 minutes
Salicylate de soude	2 heures 10'

TABLEAU 9

Influence des antioxygènes

Température 38°

Témoins	20 minutes
Salicylate de méthyle	38 »
Résorcine	45 »
Gaïacol	62 »
Cyanure de Hg	70 »
Salicylate de soude	1 heure 45'

TABLEAU 10
Influence des antioxygènes
Température 38°

Témoins	25 minutes
Camphre	39 »
Soufre	40 »
Hyposulfite	45 »
Hydroquinone	1 heure 5'
Pyridine	1 heure 15'
Tanin	5 heures 45'

TABLEAU 11
Influence des antioxygènes
Température 38°
(Foie de cobaye prélevé 1 heure après la mort.)

Témoins	10 minutes
Camphre	19 »
Salicylate de méthyle	20 »
Phénol	25 »
Résorcine	28 »
Cyanure de mercure	37 »
Salicylate de soude	49 »

Dans le tableau 12, nous avons ramené par une simple règle de proportionnalité tous les résultats précédents à une même valeur de durée de réduction en l'absence de substances étrangères

32 minutes à 17°.

20 minutes à 38°.

de manière à pouvoir comparer le pouvoir ralentissant des diverses substances qui ont été utilisées dans des séries d'expériences différentes.

TABLEAU 12

Température 17°		Température 38°		Quotient
Témoins..	32 minutes	Témoins	20 minutes	1 h. 12
Camphre	52 »	Camphre	31 »	1 h. 20
Salicylate de méthyle..	53 »	Salicylate de méthyle..	38 »	1 h. 24
Soufre	54 »	Soufre	32 »	1 h. 28
Phénol	68 »	Phénol	43 »	1 h. 32
Résorcine	68 »	Résorcine	45 »	1 h. 36
Hydroquinone	70 »	Hydroquinone	52 »	1 h. 40
Gaïacol	81 »	Gaïacol	62 »	1 h. 44
Cyanure de Hg.	1 heure 48	Cyanure de Hg	70 »	1 h. 48
Salicylate de soude	2 » 10	Salicylate de soude....	1 heure 45	1 h. 52
Tanin	6 37	Tanin	4 » 36	1 h. 56

On voit que le quotient des durées de réduction à 17° à 38° s'écarte peu d'une valeur moyenne voisine de 1,2.

INFLUENCE DE L'AIR EXTERIEUR

Pour nous rendre compte de l'influence exercée par l'air extérieur à la surface libre du liquide nous avons effectué une série d'expériences à une température de 17°, avec le même glycéral de foie de porc d'une part, dans les conditions ordinaires, puis en

disposant au-dessus du liquide une mince couche d'huile de paraffine et enfin en opérant en tubes scellés rigoureusement pleins de liquide. Le tableau 13 résume les résultats obtenus :

TABLEAU 13

	A l'air libre	Sous huile de paraffine	En tubes scellés
	—	—	—
Témoins	35 minutes	35 minutes	34 minutes
Camphre	53 »	53 »	53 »
Phénol	68 »	68 »	68 »
Résorcine	68 »	68 »	68 »
Salicylate de Na. .	2 heures 10	2 heures 10	2 heures 10

On peut donc considérer que les résultats sont les mêmes avec les trois modes opératoires différents.

Aussi dans toutes nos expériences nous avons opéré en tubes à essai ouverts à l'air libre.

Influence de la concentration des substances antioxygènes

Pour étudier l'influence exercée par la concentration des antioxygènes sur la vitesse de réduction nous avons noté les temps de réduction obtenus quand on fait varier la concentration des solutions antioxygènes de telle façon qu'en en ajoutant 1 cm³ par tube,

la quantité de substance ajoutée soit pour le volume total du mélange en expérience de

0,50	1	2	3	10	20
1000	1000	1000	1000	1000	1000

Dans ces conditions dans une première expérience avec le salicylate de soude, à une température de 17°, les résultats obtenus furent les suivants :

TABLEAU 14

Action des substances antioxygènes
Influence de la concentration

Concentration en salicylate de soude p. 1.000 du volume total du mélange.	Durées de réduction.
Témoins	34 minutes
0,50/1.000	49 »
1/1.000	1 heure 04'
2/1.000	1 » 44'
3/1.000	2 » 12'
10/1.000	20 »
20/1.000 ..	Pas de décoloration au bout de 20 h.

Les résultats exposés dans le tableau 15 furent obtenus avec des solutions de résorcine à une température de 15°.

TABLEAU 15

Témoins	35 minutes
0,50/1.000	46 »
1/1.000	1 heure 37'
2/1.000	1 » 09'
3/1.000	1 » 17'
10/1.000	3 » 30'
20/1.000	8 »

Dans tous les cas la vitesse de réduction de bleu de méthylène décroît à mesure que croît la quantité de substance antioxygène ajoutée.

Interprétation des résultats

On voit donc que la présence des substances antioxygènes entraîne une diminution importante de la vitesse de réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux, autrement dit l'oxydation de ce tissu est retardée par la substance antioxygène. Toutefois l'interprétation des résultats est assez délicate, les recherches de Ch. Moureu et Ch. Dufraisse ont porté uniquement sur les phénomènes d'oxydation directe produits par l'oxygène libre. Dans nos expériences bien qu'on ne puisse éliminer en toute certitude l'action de l'oxygène libre, il semble plutôt que l'action antioxygène se soit manifestée sur des phénomènes

d'oxydation indirecte. Ce qui pourrait peut-être constituer une généralisation de la propriété antioxygène signalée par Moureu et Dufraisse.

Action des antithermiques

On a souvent émis l'hypothèse que dans l'organisme les substances antithermiques interviennent, tout au moins en partie en diminuant l'activité des combustions organiques. Aussi nous a-t-il paru intéressant d'examiner si ces substances ne produisaient pas une action retardatrice sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux.

Les résultats obtenus, résumés dans le tableau 16 et relatifs à des expériences effectuées dans les mêmes conditions que précédemment, révèlent l'existence très nette d'une telle action.

TABLEAU 16
Action des antithermiques
Température 20°

Substances ajoutées.	Temps de décoloration.
Tubes témoins	14 minutes
Pyramidon	22 »
Phénacétine	25 »
Sulfate n. de quinine	28 »
Antipyrine	33 »
Cryogenine	40 »
Aspirine : Décoloration incomplète ; 20 heures après l'expérience, il persiste une coloration bleu-pâle qui ne diminue plus.	

Chapitre III

INFLUENCE DES ACIDES ET DES BASES SUR LA REDUCTION DU BLEU DE METHYLENE PAR LES TISSUS ANIMAUX

Il nous a paru intéressant d'étudier, dans les mêmes conditions expérimentales, l'influence des acides et des bases sur le phénomène. Comme précédemment dans les tubes destinés à servir de témoins, on introduit 2 cm³ de glycérat, 10 cm³ d'une solution de bicarbonate de soude à 5 grammes par litre et une goutte (mesurée au compte-goutte de Duclaux) d'une solution de bleu de méthylène à 10 grammes par litre.

Dans les expériences destinées à étudier l'action d'une substance étrangère on introduit dans le tube à essai 2 cm³ de glycérat, 10 cm³ d'une solution de bicarbonate de soude à 5 grammes par litre contenant une certaine quantité de la substance dont on se

propose d'étudier l'action sur le phénomène et une goutte de solution de bleu de méthylène.

Les résultats obtenus sont exposés dans les tableaux 17 et 18; dans la première colonne on a indiqué le volume de la solution acide ou basique introduite dans les 10 cm³ de solution bicarbonatée et dans la deuxième colonne la durée de réduction. Pour les tubes témoins cette durée de réduction était de 50 minutes, température 17°.

Tableau 17

Action des acides

2 gouttes solution HCL N/10	1 heure	19
5 — — —	1 »	25
10 — — —	1 »	46
15 — — —	1 »	50
2 gouttes solution SO ⁴ H ² N/10	1 heure	18
5 — — —	1 »	20
10 — — —	1 »	23
15 — — —	1 »	30
2 gouttes solution HCN 1/1.000	1 heure	04
5 — — —	1 »	06
10 — — —	1 »	14
15 — — —	1 »	20

TABLEAU 18
Action des bases

Décoloration des tubes témoins	50 minutes
2 gouttes solution NH^3 à 40 %	45 »
5 — — —	41 »
10 — — —	38 »
15 — — —	35 »
2 gouttes solution Na OH N/10	41 minutes
5 — — —	38 »
10 — — —	35 »
15 — — —	28 »
2 gouttes solution KOH N/10	35 minutes
5 — — —	32 »
10 — — —	25 »
15 — — —	25 »

La réaction est donc toujours accélérée par les bases et retardée par les acides.

Antérieurement à nos recherches M. le Professeur Roger avait constaté l'action retardatrice de l'acide cyanhydrique sur la décoloration du bleu de méthylène par les tissus animaux.

A 4 cm^3 d'extrait hépatique il avait ajouté des quantités décroissantes d'acide cyanhydrique et versé assez d'eau pour avoir dans chaque tube 5 cm^3 . Il introduisait ensuite à deux reprises trois gouttes de la solution de bleu de méthylène. Les résultats qu'il obtint sont résumés dans le tableau suivant :

TABLEAU 19

Influence de l'acide cyanhydrique
sur le phénomène (H. Roger)

Quantité d'acide cyanhydrique		Temp nécessaire à la décoloration de 3 gouttes	
par tube	par cm ³	2 heures	Pas de décoloration
50 mmg.	1 gr.	1 h. 45	après 6 heures.
25 mmg.	0,50	1 h. 10	3 h.
15 mmg.	0,10	1 h. 10	3 h.
2,5	0,05	1 h.	2 h. 30
0,5	0,025	55 minutes	1 h. 50
0,25	0,005	55 »	1 h. 40
0,05	0,0025	55 »	1 h. 35
0,025	0,0005	45 »	1 h. 30
0,005	0,00025	45 »	1 h. 15
0,0025	0,00005	35 »	40 minutes

Pour lui cette modification du pouvoir réducteur expliquait certains troubles de l'empoisonnement cyanhydrique. En effet, disait-il, « ce qui frappe à l'autopsie des animaux qui ont succombé à l'intoxication cyanhydrique, c'est la coloration rouge clair du sang, même du sang veineux ». « Les organes ont une teinte rose, très manifeste dans le foie, qui diminue peu à peu après la mort et finit par disparaître. Il s'est donc fait un arrêt des phénomènes d'oxydo-réduction, oxydations et réductions étant

toujours liées par une connexité étroite. Mais il y a seulement un retard et non une suppression définitive puisque peu à peu organes et tissus reprennent leur coloration normale. Le résultat cadre avec celui que fournit l'étude du pouvoir réducteur en dehors de l'organisme. Sous l'influence de l'acide cyanhydrique les réductions sont retardées mais pas complètement supprimées ».

Il résulte de nos expériences que la toxicité de l'acide ne semble pas devoir être mise en cause, les autres acides, tout comme l'acide cyanhydrique, exercent tous une action retardatrice très nette sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux.

Chapitre IV

ACTION DES SELS SUR LES PHENOMENES

Nous avons étudié ensuite l'action des sels les plus divers sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux.

Dans ce but on introduisait dans le tube à essai 2 cm³ de glycéral, 10 cm³ d'une solution de bicarbonate de soude à 5 grammes par litre contenant 0 gr. 03 de sel dont on se proposait d'étudier l'action sur le phénomène et une goutte de solution de bleu de méthylène. Les nombres reportés dans les tableaux 20 et 21 résument les résultats obtenus : dans la première colonne on a indiqué la nature du sel introduit dans 10 cm³ de la solution bicarbonatée, dans la seconde la durée de réduction du bleu de méthylène.

TABLEAU 20
Influence des sels sur le phénomène

Sels.	Durées de réduction.
Methylarsinate de soude	20 minutes
Arseniate sodique	55 »
Cacodylate de soude	1 heure
Phosphate de soude	1 »
Citrate de soude	1 » 05'
Borate de soude	1 » 25'
Carbonate de manganèse	1 » 32'
Formate de soude	1 » 35'
Tubes témoins	1 » 40'
Bromure de sodium	2 »
Nitrite de sodium	2 » 15'
Benzoate de sodium	2 » 35'
Hyposulfite de sodium	3 » 40'

TABLEAU 21
Influence des sels sur le phénomène

Durées de réduction relative aux tubes témoins sans addition de sels, 1 h. 40.

Sels ajoutés.	Durées de réduction.
Phosphate de soude	1 heure 13'
Chlorure de sodium	3 »
Chlorure d'ammonium	3 » 14'
Chlorure de calcium	3 » 45'
Sulfate de soude	3 » 04'
Chlorure de magnésium	5 »
Sulfate double d'aluminium et de potassium : Pas de décoloration,	

Certains sels accélèrent donc le phénomène tandis que d'autres le retardent sans qu'on puisse faire intervenir pour interpréter les résultats expérimentaux aucune action antioxygène, ni aucune propriété particulière des anions ou des cathions.

Pour nous rendre compte de l'influence que pourrait avoir la concentration en ions H, sur le phénomène, nous avons déterminé la valeur du coefficient PH relative à la solution de bicarbonate de soude additionnée du sel à étudier.

Dans la première colonne du tableau 22 on a indiqué la nature et la quantité de sel introduit dans 10 cm³ de la solution bicarbonatée, dans la deuxième colonne le coefficient PH. et dans la troisième la durée de réduction du bleu de méthylène. La durée de réduction relative aux tubes témoins sans addition de sel était de 1 h. 40.

TABLEAU 22

Influence des sels sur le phénomène

Sels	P.H.	Durées de réduction
0,03 méthylarsinate de soude.	9,6	20 minutes
0,03 d'arsenate dissodique ..	8,6	55 »
0,03 de phosphate dissodique ..	8,5	1 heure
0,03 de citrate trisodique	8,5	1 » 55
Tubes témoins	8,3	1 » 40
0,03 de nitrite de soude	8,2	2 » 15
0,03 de chlorure de calcium.	6,8	3 »

Les résultats obtenus montrent que le temps nécessaire à la réduction du bleu de méthylène est d'autant plus court que le coefficient PH est plus grand, ce qui établit l'influence exercée par la concentration en ions H.

Ils se relient tout naturellement à ceux que nous venons de signaler relativement à l'influence des acides et des bases.

Influence de la proportion de sel ajouté sur la vitesse de réduction du bleu de méthylène. — Le tableau 23 rend compte de l'influence de la quantité de sel ajouté au milieu réagissant sur la vitesse de réduction du bleu de méthylène par les tissus hépatiques. Dans la première colonne des tableaux ci-dessous on a indiqué la quantité de sel ajouté par tube, et dans la deuxième colonne le temps de réduction du bleu de méthylène.

TABLEAU 23

Expérience avec le phosphate disodique

La durée de réduction relative aux tubes témoins sans additions de sel était de 1 h. 58.

TABLEAU

Quantité de sel par tube.	Durées de réduction.
0,03 de phosphate disodique	1 heure 18'
0,05 —	1 » 17'
0,10 —	1 » 16'
0,30 —	58 minutes
0,50 —	50 »
0,75 —	41 »
1 gramme —	37 »
2 grammes —	33 »
A saturation	33 »

Action des eaux minérales sur le phénomène

Enfin il nous a paru intéressant d'envisager l'action des eaux minérales sur le phénomène. A 2 cm³ de glycérat on ajoutait 10 cm³ de l'eau minérale considérée, une goutte de la solution de bleu de méthylène et on comparait les résultats obtenus à ceux fournis par l'expérience témoin, faite sur un mélange de 2 cm³ de glycérat, 10 cm³ de solution bicarbonatée à 5 grammes par litre et une goutte de solution de bleu de méthylène. Le tableau 24 donne les temps de réduction ainsi observés pour quelques eaux minérales courantes.

Il a été impossible d'utiliser les eaux sulfureuses qui, même en l'absence de glycérat, décolorent le bleu de méthylène.

En l'absence d'eaux minérales et en présence de la

solution bicarbonatée à 5 grammes par litre, la réduction des tubes témoins se faisait en deux heures, trente minutes.

TABLEAU 24

Influence des eaux minérales

Eaux minérales.	Durées de réduction.
Vichy grande grille	43 minutes
Vichy Célestins	45 »
Vichy hôpital	40 »
Pougues Saint-Léger	47 »
Vichy Saint-Yorre	50 »
Villacabras	1 heure 10'
Vals Reine	1 » 10'
Evian-Cachat	1 » 20'
Vittel grande source	1 » 30'
Abatilles	1 » 30'
Saint-Colomban	1 » 40'
Tubes témoins	2 » 30'

Les écarts entre les diverses eaux minérales, en ce qui concerne leur action sur le phénomène, doivent évidemment tenir à des causes complexes parmi lesquelles interviennent la composition des eaux minérales et leur concentration en ions H. Nous n'avons mentionné les résultats précédents que pour signaler un nouveau mode d'action des eaux minérales sur les diverses fonctions physiologiques qui s'accomplissent au sein de l'organisme.

Chapitre V

ACTION DES ALCALOÏDES

Dans les mêmes conditions expérimentales nous avons pu constater que tous les alcaloïdes dont nous avons pu disposer : théobromine, pilocarpine, strychnine, aconitine, émétine, spartéïne, morphine, cocaïne, se comportent comme les antioxygènes et retardent la décoloration du bleu de méthylène. C'est ce que montrent les résultats suivants relatifs à des expériences dans lesquelles on introduisait 3 centigrammes de divers alcaloïdes dans les 10 cm³ de la solution de bicarbonate.

TABLEAU 25

Expérience I

Température 37°

La durée de réduction relative au tube témoin sans addition d'alcaloïdes était de cinquante cinq minutes.

Alcaloïdes.	Durées de réduction.
Témoins	55 minutes
Théobromine	1 heure 05'
Pilocarpine (azotate)	1 » 05'
Strychnine (sulfate)	1 » 10'
Aconitine (azotate)	1 » 13'
Emétine (chlorhydrate)	1 » 21'
Spartéïne (sulfate)	1 » 21'
Morphine (chlorhydrate)	1 » 30'
Cocaïne (chlorhydrate)	2 »

TABLEAU 26

Expérience II

Température 17° (Foie de veau)

Alcaloïdes.	Durées de réduction.
Témoins	1 heure 30'
Théobromine	1 » 32'
Pilocarpine (azotate)	1 » 33'
Strychnine (sulfate)	1 » 45'
Aconitine (azotate)	1 » 50'
Emétine (chlorhydrate)	1 » 52'
Spartéïne (sulfate)	1 » 52'
Morphine (chlorhydrate)	2 » 05'
Cocaïne (chlorhydrate)	2 » 33'

Chapitre VI

INFLUENCE DE DIVERS SERUMS

M. le Professeur Roger (1) avait constaté que le sérum sanguin ne possède pas le pouvoir réducteur mais qu'il exerce toutefois une action accélératrice, dite zymosthénique, sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus.

M. Roger soumettait du foie frais à un lavage prolongé, ce foie frais perdait presque complètement son pouvoir réducteur, mais le retrouvait par addition de sérum. En opérant avec du foie frais, lavé et centrifugé à plusieurs reprises on reprenait le culot à l'eau distillée et on le distribuait dans 3 tubes, on ajoutait ensuite de l'eau ou du sérum. On obtenait alors les résultats exposés dans le tableau 27.

(1) H. ROGER : *Revue de Médecine*, 38^e année, 1921, p. 17.

TABLEAU 27 (H. Roger)

I. — Eau distillée 0 cm ³ 5 + eau bicarbonatée 0 cm ³ 5 :	
2 heures.	4 heures.
—	—
Pas de réduction.	Réduction de 1/3.
II. — Eau distillés 0 cm ³ 8 + sérum 0 cm ³ 2 :	
2 heures.	4 heures.
—	—
Pas de réduction.	Réduction totale.
III. — Eau distillée 0 cm ³ 5 + sérum 0 cm ³ 5 :	
2 heures.	4 heures.
—	—
Réduction totale.	Réduction totale.

En outre M. Roger avait étudié l'influence sur la réduction du bleu de méthylène de divers sérums de malades atteints d'affections hépatiques, de syphilis, de paludisme. Les tableaux 28 et 29 résument deux expériences typiques effectuées avec de l'extrait glycériné de foie lavé auquel on ajoutait les différents sérums étudiés.

TABLEAU 28

Expérience I

Le tube contenait 0 cm³ 5 d'extrait glycériné de foie de lapin lavé, délayé dans 2 cm³ 5 d'eau soit 3 cm³, dans chaque tube on ajoute :

Décoloration après 2 heures.	
Eau bicarbonatée 1 cm ³	0
Sérum de délirant 1 cm ³	0
Sérum de paraplegique 1 cm ³	0
Sérum de cirrhotique 1 cm ³	totale.
Sérum de lapin normal 1 cm ³	0
Sérum de lapin à cholédoque lié 1 cm ³	0

TABLEAU 29

Expérience II

Extrait glyceriné de foie lavé de lapin 2 cm³ 5, on ajoute :

Décoloration après 2 heures.	
Eau salée 1 cm ³	0
Eau bicarbonatée 1 cm ³	1/4
Sérum de paludéen 1 cm ³	1/4
Sérum de syphilitique 1 cm ³	2/3
Sérum d'aortique 1 cm ³	totale

Nous avons étudié l'action sur le phénomène de sérums normaux, de divers sérums thérapeutiques, antidiphthérique, antitétanique, antimeningococcique, antipneumococcique, antistreptococcique, enfin de sérums de cancéreux, de syphilitiques.

Comme dans plusieurs expériences de M. le Pro-

fesseur Roger chaque tube contient 2 cm³ de glycérat, 2 cm³ d'une solution de bicarbonate de soude à 5/1000, une goutte de solution de bleu de méthylène et 2 cm³ de sérum.

Nous avons vérifié tout d'abord l'action accélératrice de divers sérums de sujets considérés comme normaux sur la réduction du bleu de méthylène. Le tableau 30 rend compte d'une telle action.

TABLEAU 30

Influence des sérums

Sérums ajoutés.	Durées de réduction.
Sérum humain n° 1.....	45 minutes
Sérum humain n° 2.....	50 »
Sérum de cheval.....	55 »
Sérum de lapin	1 heure 20'
Témoins sans addition de sérum	3 »

Les résultats résumés dans le tableau 31 montrent l'influence de la quantité de sérum ajoutée, sur la vitesse de réduction du bleu de méthylène.

La décoloration est d'autant plus rapide que la quantité de sérum ajouté est plus grande.

TABLEAU 31

Température 17°

Influence de la quantité de sérum ajoutée
sur la réduction du bleu de méthylène
par les tissus hépatiques

Influence de divers sérums thérapeutiques

Sérums ajoutés.	Durées de réduction.
Sérum de cheval 1 cm ³	2 heures 30'
— 2 cm ³	1 » 38'
— 3 cm ³	1 » 28'
— 4 cm ³	1 » 23'
— 5 cm ³	1 » 06'
Tubes témoins	3 » 18'

L'addition au milieu réagissant de sérums thérapeutiques de l'institut Pasteur : antidiphthérique, antitétanique, antistreptococcique, antiméningococcique, antipneumococcique, antigangréneux, antidy-sentérique, accélère dans tous les cas la réduction du bleu de méthylène comme le montrent les résultats exposés dans le tableau 32.

TABLEAU

TABLEAU 32

Température 17°

Influence de divers sérums thérapeutiques sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus hépatiques

Sérums ajoutés.	Durées de réduction.
Sérum antidiphthérique	2 heures 10'
» antitétanique	1 » 45'
» antistreptococcique	1 » 40'
» antiméningococcique	1 » 35'
» antigangréneux	1 » 33'
» antipneumococcique	1 » 30'
» antidysentérique	1 » 30'
Témoins sans addition de sérum	2 » 44'

Enfin nous avons effectué quelques expériences avec divers sérums de malades. Nous avons constaté tout d'abord que, comme les sérums de sujets sains les sérums de malades ne pouvaient à eux seuls décolorer le bleu de méthylène.

Les travaux de Thomas et Binetti nous ont conduit à étudier plus particulièrement quelques sérums de cancéreux. Ces auteurs avaient proposé en 1922 (1) une méthode de séro-diagnostic du cancer, méthode

(1) J. THOMAS et BINETTI : *C.R. Soc. Biologie*, 1^{er} semestre, p. 29, 1922.

discutée d'ailleurs en 1926 par Mondain et ses collaborateurs (2).

Le principe de la méthode est le suivant : dans une première série de quatre tubes, on introduit en nombre déterminé pour chaque tube et en ordre croissant, des gouttes d'un sérum normal, d'un extrait de tumeurs cancéreuses, et d'une solution de bleu de méthylène.

Dans une deuxième série de quatre tubes, on introduit dans les mêmes proportions pour chaque tube que précédemment, des gouttes de sérum suspect, d'extrait cancéreux et de solution de bleu de méthylène.

Dans le cas d'un sérum cancéreux, la décoloration du mélange renfermant le mélange suspect débute plus tôt que celle du mélange au sérum normal et tous les tubes de la deuxième série sont décolorés en 60 minutes environ.

Nous avons recherché si en l'absence d'extrait néoplasique le sérum cancéreux pouvait à lui seul décolorer le bleu de méthylène, et si en présence de tissus hépatiques ce sérum manifestait une action accélératrice spéciale sur le phénomène. Nous n'avons jamais pu obtenir dans nos expériences la décoloration du

(2) DOURIS-MONDAIN et BECK : Sur le pouvoir réducteur du sérum cancéreux : *C.R. Soc. Biologie*, T. 94, p. 963, 1926 ; — Au sujet du séro-diagnostic du cancer. Les phénomènes de réduction. *Ann. Pasteur*, T. 40, p. 431.

bleu de méthylène par le sérum de cancéreux pas plus d'ailleurs qu'avec les autres sérums.

Si l'on ajoute au mélange de sérum de cancéreux et de bleu de méthylène, du glycérat de foie de veau frais la décoloration se produit à cause du seul glycérat, le sérum cancéreux n'a dans la réaction qu'une action accélératrice, commune d'ailleurs à tous les autres sérums, comme le montrent les expériences résumées dans les tableaux 33 et 34.

TABLEAU 33
Influence des sérums

Sérums ajoutés.	Durées de réduction.
Sérum normal de (cheval)	55 minutes
Sérum cancéreux n° 1	1 heure 15'
Sérum cancéreux n° 2	1 » 10'
Sérum cancéreux n° 3	1 » 10'
Sérum de syphilitique n° 1	1 » 07'
Sérum de syphilitique n° 2	1 » 03'
Témoins	3 »

TABLEAU 34
Influence des sérums

Sérums ajoutés.	Durées de réduction.
Sérum cancéreux n° 4	1 heure 22'
Sérum cancéreux n° 5	1 » 10'
Sérum cancéreux n° 6	1 » 06'
Sérum normal (homme)	1 »
Sérum de syphilitique n° 3	1 »
Témoins	3 »

Dans toutes nos expériences nous avons trouvé que les sérums cancéreux exerçaient sur la durée de réduction du bleu de méthylène par le tissu hépatique une accélération moindre que les autres sérums utilisés.

L'action comparative sur le phénomène des divers sérums pathologiques mériterait à elle seule une étude complète qui ne peut d'ailleurs être faite que dans les services hospitaliers et que nous n'avons pas eu la possibilité d'entreprendre.

Tous les sérums étudiés ont accéléré la décoloration du bleu de méthylène, et l'accélération a été d'autant plus appréciable que la quantité de sérum ajouté a été plus importante, ces résultats confirment et généralisent les observations antérieures de M. le Professeur Roger (1).

**Influence des substances salines
en dissolution dans le sérum,
sur la durée de réduction du bleu de méthylène
par les tissus animaux**

Ayant constaté que les sels à réaction basique accélèrent la réduction du bleu de méthylène par les tissus hépatiques nous nous sommes demandé si l'ac-

(1) H. ROGER : *Revue de Médecine*, « Recherches expérimentales sur le pouvoir réducteur des tissus », n° 1, 38° année, 1921.

tion accélératrice exercée par le sérum ne pourrait pas se rattacher aux substances salines qu'il contient en dissolution.

Nous avons étudié l'influence sur la réduction du bleu de méthylène d'une solution ayant la composition suivante :

Chlorure de sodium	=	5 gr. 546
Chlorure de potassium	=	0 gr. 259
Sulfate de potassium	=	0 gr. 281
Phosphate de soude	=	0 gr. 272
Soude (à l'état de carbonate)	=	1 gr. 532
Phosphate de calcium	=	0 gr. 298
Phosphate de magnésium	=	0 gr. 218
Eau distillée	q.s.p.	1.000 cm ³

Les quantités respectives des divers sels entrant en dissolution étant celles déterminées antérieurement par M. Douris par l'analyse des cendres d'un sérum humain.

Le tableau 34 bis résume les résultats obtenus et montre que l'action accélératrice exercée par la solution saline est très voisine de celle exercée par un sérum normal. En sorte que la plus grande partie du moins de l'action accélératrice exercée par les sérums sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus hépatiques semble pouvoir être rattachée à l'influence des substances salines qu'ils contiennent en solution.

TABLEAU 34 bis

**Influence des substances salines
en dissolution dans le sérum**

Quantité de sérum ou de solution saline.	Durées de réduction.
1 cm ³ solution saline	20 minutes
2 cm ³ solution saline	18 »
3 cm ³ solution saline	15 »
1 cm ³ sérum de cheval	21 »
2 cm ³ sérum de cheval	19 »
3 cm ³ sérum de cheval	18 »
Témoins	25 »

Chapitre VII

REDUCTION DU BLEU DE METHYLENE PAR LES PRODUITS OPOTHERAPIQUES A BASE DE FOIE

Il nous a paru intéressant de rechercher dans quelles mesures les propriétés réductrices des tissus hépatiques vis à vis du bleu de méthylène persistaient quand on leur fait subir les diverses manipulations nécessaires à leur transformation en produits thérapeutiques.

Ces produits peuvent être divisés en deux groupes: 1°) des extraits glycélinés : les uns injectables, les autres buvables et employés fréquemment depuis quelques années dans le traitement d'anémies diverses par une méthode basée sur les travaux de Whipple, Minot et Murphy; 2°) les poudres de foie.

A titre d'indications pour les comparaisons qui vont suivre on trouvera dans le tableau 35, les temps de décoloration obtenus à 17° avec un extrait glycé-

riné de foie de porc préparé à partieségales de glycérine et de foie, pour un mélange contenant N cm³ d'extrait glycérimé, une goutte de solution de bleu de méthylène à 1/100, et une solution de bicarbonate de soude telle que dans tous les cas le volume du mélange soit 10 cm³ et la quantité totale de ce sel 0 gr. 05 (1 cm³ de glycérat pèse 1 gr. 40).

TABLEAU 35

Quantité de glycérat..	1 cm ³	2 cm ³	3 6m ³	4 cm ³	5 cm ²
Temps de décoloration.	30'	20'	14'	13'	10'

Comme extraits liquides de foie buvables nous avons utilisé tout d'abord deux produits spécialisés préparés par l'industrie pharmaceutique et n'ayant subi aucun traitement spécial en vue de l'élimination des protéines et des lipides — 2 cm³ du produit A et 5 cm³ du produit B correspondaient à un même poids de 0 gr. 20 d'extrait de foie d'après les formules indiquées sur les produits.

Pour faire les mesures nous avons introduit dans un tube à essai soit 2 cm³ de A, soit 5 cm³ de B et complété le volume à 10 cm³ avec une solution de bicarbonate de soude de concentration telle que la quantité de sel soit dans tous les cas de 0 gr. 05 puis nous avons ajouté une goutte de la solution de bleu

de méthylène à 1/100. A 17° au bout de 12 heures nous n'avons observé aucune décoloration appréciable; à 37° les temps nécessaires à la décoloration ont été :

pour A : 1 h. 55;

pour B : 2 h. 10.

Pour les extraits injectables aucune réduction n'a pu être observée ni à 17° ni à 37° au bout de 24 heures.

Les poudres de foie se sont révélées plus actives. A 17° on observe déjà une décoloration partielle, à 37° les temps nécessaires à la décoloration ont été deux échantillons de provenances différentes :

pour A' : 37 minutes;

pour B' : 45 minutes.

L'absence de réduction dans le cas des extraits liquides injectables nous paraît tenir au mode de préparation. Pour éviter la formation d'abcès le liquide doit être rigoureusement stérilisé. Or les bougies utilisées pour la stérilisation retiennent la plus grande partie des ferments et des matières albuminoïdes. C'est sans doute à l'élimination à peu près complète de ces ferments et de ces substances albuminoïdes qu'il faut attribuer l'absence du pouvoir réducteur des extraits injectables.

En effet en introduisant dans le tube à réaction contenant un extrait injectable qui ne donne aucune

décoloration en 24 heures, 0 gr. 15 d'albumine cristallisée qui seule ne produit aucune décoloration à la température de l'expérience (37°) nous avons observé une décoloration complète en une heure.

Une autre confirmation de cette hypothèse nous a été fournie par l'étude de divers extraits buvables, employés en thérapeutique et qui sont indiqués comme « déprotéïnés et délipoïdés ». Ces extraits se sont comportés comme les extraits injectables et n'ont donné lieu à aucune réduction même au bout de plusieurs heures.

En résumé les propriétés réductives, vis à vis du bleu de méthylène, des divers produits opothérapiques à base de foie sont toujours moindres que celles des extraits glycélinés préparés à froid. De tous ces produits ce sont les poudres de foie qui ont les propriétés réductives les plus accentuées, bien qu'à cet égard leur activité soit nettement inférieure à celle du produit glycéliné frais.

Viennent ensuite certains liquides dits « buvables et non injectables », n'ayant subi aucune préparation spéciale pour l'élimination des lipides et des protides. Enfin les produits injectables ou les produits buvables déprotéïnés et délipoïdés n'ont plus aucune activité réductrice appréciable.

Remarque

**au sujet de l'utilisation possible de la réaction
pour l'essai qualitatif des produits opothérapiques
à base de foie**

Le bleu de méthylène pourrait être utilisé comme réactif permettant de se rendre compte si un produit opothérapique à base de foie a été ou non déprotéiné et délipidé. Dans les conditions précisées ci-dessus le produit opothérapique déprotéiné et délipidé ne doit donner aucune décoloration du bleu de méthylène. Au contraire la décoloration sera d'autant plus rapide que la proportion de protéïnes et de lipides sera restée plus élevée dans l'extrait examiné.

L'étude de la réaction aurait surtout une utilité pour les produits injectables. On admet en effet, généralement, que dans ces produits la présence de protéïne et de lipides peut être dangereuse.

En ce qui concerne les extraits buvables les opinions sont un peu divergentes.

Pour certains cliniciens ces substances seraient inactives et même nuisibles et susciteraient dans le métabolisme un état d'uricémie; pour d'autres elles interviendraient, avec le reste de l'extrait, dans l'activité thérapeutique du produit.

DEUXIEME PARTIE

Chapitre Premier

EXPOSE DES RECHERCHES ANTERIEURES SUR LA REDUCTION DU BLEU DE METHYLENE PAR LE LAIT

Dès 1887 E. Duclaux avait mis en évidence les propriétés réductrices du lait (1) par la décoloration d'une solution de carmin d'indigo.

Schardinger (2), en 1902, montra que le lait frais, qui seul n'a aucune action sur le bleu de méthylène, réduit rapidement ce colorant en présence d'aldéhyde formique. Par ébullition cette propriété disparaît, aussi sert-elle de test pour distinguer le lait cru du lait bouilli. Au bout de quelques heures les microbes présents confèrent au lait la propriété de réduire le bleu de méthylène en l'absence d'aldéhyde. (3)

(1) E. DUCLAUX : *Le Lait*, 1887.

(2) SCHARDINGER : *Zeitschüfft für Untersuchung der Nahrungs und Genüss.* Nittel, 1902.

(3) BEIJERINCK : *Phénomènes de réduction produits par les microbes.* Archives des Sciences exactes et naturelles. Haarlem, série II, tome IX, 1904, pp. 131-157.

La formule du réactif employé, dit de Schardinger est la suivante :

Solution alcoolique saturée de bleu de méthylène...	5 cm ³
Solution commerciale de formol	5 cm ³
Eau distillée	190 cm ³

A 5 cm³ de lait, on ajoute dans un tube à essai 3 gouttes de réactif et on porte à l'étuve à 37°. Dans ces conditions la décoloration avec un lait frais s'effectue en 15 ou 20 minutes alors que le lait cuit ne se décolore pas au bout du même temps.

En 1907 Monvoisin (1), recommande la substitution, dans le réactif de Schardinger, de l'aldéhyde éthylique récemment préparée à la solution commerciale de formol. Cette modification aurait l'avantage de réduire le temps de décoloration à 3 ou 5 minutes, alors qu'avec la solution formolée, elle n'est complète qu'en 20 minutes environ.

En 1929, Viertauber (2) constata que le lait cru réduisait aussi le vert de Janus.

Ses expériences montrent :

1°) que le vert de Janus est préférable au bleu de méthylène en ce qui concerne la brièveté du temps de réduction si la concentration alcoolique de 3 p. 100 et la température de 38° ne sont pas dépassées;

(1) MONVOISIN : *Revue générale du Lait*, 1907.

(2) VIERTAUBER : *Milchwirtsch Forschung*, année 1929, tome 7, n° 5 et 6, pp. 631-652.

2°) que le vert de Janus présente l'inconvénient d'une lecture de résultat moins exacte qu'avec le bleu de méthylène.

Hypothèses concernant le mécanisme de la réaction:

Pour Seligman les propriétés réductrices du lait tiendraient aux produits de décomposition de la caséine formés dans la mamelle même par voie autolytique ou par action bactérienne.

Orla Jansen (1) ayant observé que les dernières portions de la traite, plus riches en matières grasses que les premières, étaient aussi plus riches en reductase conclut que la réduction du bleu de méthylène dépendait de la membrane des globules butyreux.

Monvoisin (2) dans son traité du lait propose une troisième hypothèse.

Il distingue deux sortes de diastases réductrices du lait : des réductases microbiennes et une réductase aldéhydique ou perhydrase. La réduction du lait se ferait facilement, sans adjuvant, lorsque le lait renferme des diastases microbiennes (3). Avec les laits

(1) ORLA JANSEN : *Revue générale du Lait*, 1906.

(2) MONVOISIN : *Traité du Lait*, tome I, édition 1920.

(3) L'action des réductases microbiennes sur le bleu de méthylène utilisée pour apprécier l'altération du lait a été étudiée particulièrement par : E. DUCLAUX : *Le Lait*, 1887 ; — VAUDIN : *Revue d'Hygiène*, 1897, p. 688 ; KONING :

normaux et frais il serait nécessaire de faire intervenir une petite quantité de réducteur et on prend une aldéhyde, la réduction était alors appelée « réductase aldéhydique ou perhydrase ». L'aldéhyde agirait comme co-ferment à cause de son avidité pour l'oxygène fourni par la décomposition de l'eau, l'hydrogène libéré se porterait alors sur le bleu de méthylène qu'il réduirait.

Pour Monvoisin, la réductase aldéhydique proviendrait de la cellule mammaire. « Et de même que beaucoup de cellules animales possèdent des propriétés réductrices vis-à-vis du bleu de méthylène, le lait, qui représente en somme des cellules liquéfiées et diluées, posséderait quelques unes des propriétés de ces cellules animales et en particulier le pouvoir réducteur vis-à-vis du bleu de méthylène ».

Si l'on admet cette dernière hypothèse, les propriétés réductrices du lait cru se ramèneraient, en dernière analyse, à une manifestation du pouvoir réducteur que nous avons étudié dans la première partie de notre travail en utilisant des tissus animaux.

Aussi nous avons été conduits tout naturellement à étudier ensuite les variations des propriétés réductrices du lait frais vis à vis du bleu de méthylène

Pharmaceutisch Weckblad, 1905 ; — ORLA JANSEN : *Revue générale du Lait*, 1906 ; — Bertin SANS et GAUJOUX : *Revue d'Hygiène et de Police sanitaire*, 1909.

quand on ajoute au milieu réagissant les diverses substances étrangères que nous avons fait intervenir précédemment dans l'étude du pouvoir réducteur des tissus, pour en étudier l'influence sur le phénomène.

Chapitre II

METHODE EMPLOYEE INFLUENCE DES SUBSTANCES ANTIOXYGENES

Au bout de quelques heures le lait est envahi par des germes microbiens les plus divers et les produits réducteurs d'origine bactérienne superposent leurs effets à ceux des produits réducteurs du lait frais normal vis à vis du bleu de méthylène.

Aussi dans les recherches que nous allons exposer le lait utilisé a été employé au plus tard une heure après la traite afin d'éliminer, autant que possible, l'action des produits réducteurs d'origine bactérienne.

Les expériences que nous avons entreprises sur le lait n'ont pu, en raison de la nature même du produit, être effectuées dans des conditions absolument comparables à celles dans lesquelles furent conduites nos expériences précédentes sur les tissus animaux.

Nous nous sommes efforcés cependant d'employer

un mode opératoire aussi peu différente que possible de celui que nous avons utilisé dans la première partie de nos recherches.

Dans un tube à essai, à 5 cm³ de lait cru et frais, on ajoute 5 cm³ d'une solution de bicarbonate de soude à 10/1000 et 2 gouttes de réactif de Schardinger.

Dans les tubes destinés à servir de témoins on ajoute 1 cm³ d'eau; afin d'étudier l'action exercée par les substances étrangères on introduit dans les autres 1 cm³ d'une solution de cette substance à 0 gr. 35 par litre.

Après agitation le tube est disposé dans une étuve à 37° et on note le temps nécessaire pour que le mélange soit entièrement décoloré et ne présente plus qu'un anneau bleu à la surface du liquide.

La solution bicarbonatée utilisée pour neutraliser le cas échéant l'acidité des glycérate dans les expériences avec les tissus animaux, n'est pas indispensable à la réduction du bleu de méthylène par le lait, nous l'avons cependant employée pour ne pas opérer dans des conditions d'expériences trop différentes de notre première série de recherches.

Dans les conditions précisées ci-dessus, et de même que dans les expériences sur les tissus animaux, le volume total du milieu réagissant est de 10 cm³ environ et pour chaque tube la quantité de substance étrangère 3 centigrs 5.

Influence des substances antioxygènes

Nous avons étudié tout d'abord l'influence sur le phénomène des mêmes substances antioxygènes dont nous avons recherché l'action sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux : camphre, salicylate de méthyle, soufre, phénol, résorcine, hydroquinone, gaïacol, cyanure de mercure, salicylate de soude, tanin.

Dans le tableau 36 nous avons résumé les résultats obtenus, et nous les avons comparés à ceux relatifs aux expériences effectuées avec les tissus animaux.

Dans la première colonne sont indiquées les substances antioxygènes ajoutées, dans la deuxième colonne les durées de réduction correspondantes en présence de tissus animaux, dans la troisième colonne les durées de réduction correspondantes en présence du lait.

TABLEAU 36

Influence des antioxygènes
Durées de Réduction

Substances ajoutées. Avec les tissus animaux.		Avec le lait.
Témoins	20'	1 h. 15
Camphre	31'	1 h. 19
Soufre	32'	1 h. 20
Salicylate de méthyle...	38'	1 h. 23
Phénol	43'	1 h. 32
Résorcine	45'	1 h. 39
Hydroquinone	52'	1 h. 44
Gaiacol	62'	1 h. 59
Cyanure de mercure	70'	2 h. 20
Salicylate de soude	1 h. 45	3 h. 25
Tanin	4 h. 36	Décoloration incomplète en 6 heures.

On voit que la réduction du bleu de méthylène par le lait comme par les tissus animaux est nettement retardée par l'addition au milieu réagissant de substances antioxygènes.

Dans ces tableaux, les substances antioxygènes ont été rangées dans ces deux cas, par ordre croissant d'activité retardatrice. On voit que dans les séries d'expériences d'une part sur les tissus animaux et d'autre part sur le lait, cet ordre a été trouvé le même.

Toutefois les divers rapports entre les temps de réduction, dans les deux cas envisagés sont exprimés par des chiffres assez différents de 1,99 à 3,75.

Chapitre III

ACTION DES ACIDES ET DES BASES

Nous avons précédemment étudié l'influence qu'exerce l'addition d'acides et de bases sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux; dans les mêmes conditions, nous avons recherché l'influence de ces mêmes acides et de ces mêmes bases sur la réduction du bleu de méthylène par le lait.

Toutefois en ce qui concerne les acides, pour éviter la coagulation du lait, nous avons ajouté ceux-ci au milieu réagissant, sous des doses plus faibles que dans les expériences correspondantes avec les tissus animaux.

Les tableaux 37 et 38 résument les résultats obtenus.

TABLEAU 37

Influence des acides
sur la réduction du bleu de méthylène par le lait

(Temps de réduction du témoin : 1 h. 15')	
Substances ajoutées.	Temps de réduction.
2 gouttes HCL N/10	1 heure 35'
5 — — — — —	1 » 29'
10 — — — — —	1 » 15'
2 gouttes $\text{SO}^4 \text{ H}^2 \text{ N/10}$	1 heure 30'
5 — — — — —	1 » 33'
10 — — — — —	1 » 45'
2 gouttes solution HCN 1/1000	1 heure 24'
5 — — — — —	1 » 26'
10 — — — — —	1 » 34'

TABLEAU 38

Influence des bases
sur la réduction du bleu de méthylène par le lait

(Durée de réduction du témoin : 1 h. 05.)	
Substances ajoutées.	Durées de réduction.
5 gouttes solution KOH N/10	50 minutes
10 — — — — —	45 »
15 — — — — —	30 »
5 gouttes solution NAOH N/10	52 minutes
10 — — — — —	46 »
15 — — — — —	35 »
5 gouttes solution NH^4 à 40 %	55 minutes
10 — — — — —	51 »
15 — — — — —	48 »

On voit que dans la réduction du bleu de méthylène par le lait, comme d'ailleurs dans la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux, les acides ont une action retardatrice et les bases une action accélératrice sur le phénomène, l'influence des acides et des bases étant d'autant plus appréciable que la quantité de ces substances est plus importante.

Chapitre IV

INFLUENCE DES SELS ET DES EAUX MINÉRALES

Les solutions salines agissent sur la réduction du bleu de méthylène aussi bien par le lait que par les tissus hépatiques. Cependant dans le cas du lait les différences d'action entre les divers sels ne sont appréciables qu'en l'absence de bicarbonate de soude. La présence de ce sel dans le cas du lait a pour effet d'atténuer considérablement la concentration en ions H qui joue un rôle très actif vis-à-vis de la vitesse de réduction.

Le tableau 39 donne les durées de réduction du bleu de méthylène par les tissus hépatiques et par le lait en présence de divers sels, la réduction se produisant dans les deux cas en l'absence de bicarbonate de soude.

TABLEAU 39

Influence des sels

Sels ajoutés	Durées de reduction	Durées de réduction
	avec les tissus hépatiques.	avec le lait.
Arrhénal	50 min.	30 minutes
Arséniate de soude..	1 h. 32	33 »
Phosphate de soude.	1 h. 32	36 »
Citrate de soude . . .	2 h. 52	37 »
Témoins	2 h. 30	38 »
Nitrite de soude	3 h. 37	40 »
Ca Cl ²	4 h. 30	46 »

L'ordre dans lequel se classent les divers sels utilisés relativement à leur action sur le phénomène, est le même pour le lait et pour les tissus animaux.

On est amené à une constatation semblable si l'on compare l'influence des eaux minérales sur la réduction du bleu de méthylène, par le lait et par les tissus animaux. Ce parallélisme ressort nettement des données rassemblées dans le tableau 40.

TABLEAU 40

**Influence des eaux minérales
sur la réduction du bleu de méthylène
par les tissus animaux et par le lait**

Eaux minérales ajoutées	Durées de réduction avec	
	les tissus animaux	avec le lait.
Témoins	2 h. 20'	28 minutes
Grande Grille	43 minutes	30 »
Pougues Saint-Léger	47 »	33 »
Vichy Saint-Yorre.	50 »	38 »
Vals Reine	1 h. 10	40 »
Evian	1 h. 20	45 »
Vittel	1 h. 30	50 »

**Travaux de MM. M. Lœper, A. Mougeot
et V. Aubertot (1)**

Les résultats de nos premières recherches sur le pouvoir zymosthénique des eaux minérales et la réductase du foie ayant été exposés en 1932, une nou-

(1) M. LOEPER, A. MOUGEOT, V. AUBERTOT : « Les réductases du foie et du lait et le pouvoir zymosthénique des eaux minérales », *Bull. Acad. de Méd.*, 7 février 1933, tome CIX, n° 6, p. 173.

(2) A. BOUTARIC et T. JACQUINOT : « sur le pouvoir réducteur des tissus hépatiques en présence d'alcaloïdes, d'acides, de bases ou de sels, et d'eaux minérales », *Bull. Acad. de Méd.*, 16 juillet 1932, p. 1054.

velle étude du phénomène fut entreprise en 1933 par MM. Lœper, A. Mugeot et V. Aubertot, suivant la méthode que nous avons proposée. Ces auteurs ont trouvé pour diverses eaux minérales un pouvoir accélérateur sensiblement égal à celui que nous avions précédemment constaté.

Chapitre V

ACTION DES ALCALOÏDES

Nous avons étudié l'influence des alcaloïdes sur la réduction du bleu de méthylène par le lait, d'une part en présence de bicarbonate de soude et d'autre part en l'absence de sel.

Dans les tableaux 41 et 42 nous avons résumé les résultats obtenus et nous les avons comparés à ceux relatifs aux expériences effectuées avec le tissu hépatique dans les mêmes conditions.

TABLEAU 41

**Influence des alcaloïdes
sur la réduction du bleu de méthylène par le lait
Expérience en présence de bicarbonate de soude**

LAIT	
Substances ajoutées.	Durées de réduction.
Témoins	43 minutes
Chlorhydrate cocaïne	43 »
Sulfate strychnine	43 »
Chlorhydrate morphine	46 »
Azotate pilocarpine	50 »
Sulfate spartéïne	56 »

TISSU HEPATIQUE	
Substances ajoutées.	Durées de réduction.
Témoins	55 minutes
Azotate pilocarpine	1 heure 05
Sulfate strychnine	1 » 10
Sulfate spartéine	1 » 21
Chlorhydrate morphine	1 » 30
Chlorhydrate cocaïne	2 »

TABLEAU 42

Expérience en l'absence de bicarbonate de soude

LAIT	
Substances ajoutées.	Durées de réduction.
Témoin	48 minutes
Chlorhydrate cocaïne	46 »
Chlorhydrate morphine	48 »
Sulfate spartéine	48 »
Sulfate strychnine	50 »
Azotate pilocarpine	54 »

TISSU HEPATIQUE	
Substances ajoutées.	Durées de réduction.
Témoin	1 heure 15
Chlorhydrate cocaïne	1 »
Chlorhydrate morphine	1 » 10
Sulfate spartéine	1 » 15
Sulfate strychnine	1 » 45
Azotate pilocarpine	1 » 50

En l'absence de bicarbonate de soude l'ordre de classement des alcaloïdes, d'après leur action sur la vitesse de réduction du bleu de méthylène, est le même, que cette réduction soit opérée par les tissus animaux ou par le lait. Lorsqu'on fait l'étude du phénomène en présence de bicarbonate de soude, cet ordre est différent, mais étant donné la fragilité des alcaloïdes vis à vis des bases, un tel résultat n'est pas étonnant.

Chapitre VI

INFLUENCE DES SERUMS SUR LA REDUCTION DU BLEU DE METHYLENE PAR LE LAIT

Pour nous rendre compte de l'influence exercée par les divers sérums sur la réduction du bleu de méthylène par le lait, nous introduisions dans chaque tube en expérience 2 cm³ de lait, 2 cm³ d'une solution de bicarbonate de soude à 5/1000, une goutte de solution de bleu de méthylène et 2 cm³ du sérum étudié.

Les résultats reportés dans le tableau 43 montrent que les sérums étudiés exercent sur la réduction du bleu de méthylène par le lait une action accélératrice comparable à celle qu'ils ont vis à vis de la réduction du bleu de méthylène par les tissus.

TABLEAU 43

Influence de divers sérums
sur la réduction du bleu de méthylène par le lait

Sérums ajoutés.	Durées de réduction.
Sérum humain n° 1	27 minutes
Sérum humain n° 2	28 »
Sérum de cheval	33 »
Sérum de cobaye	35 »
Témoins sans addition de sérum	40 »

TABLEAU 44

**Influence de la quantité de sérum ajoutée
sur le phénomène**

Quantité de sérum ajouté.	Durées de réduction.
1 cm ³ sérum de cheval	35 minutes
2 cm ³ sérum de cheval	34 »
3 cm ³ sérum de cheval	33 »
4 cm ³ sérum de cheval	30 »
5 cm ³ sérum de cheval	28 »
Témoins sans addition de sérum.....	39 »

Les résultats exposés dans le tableau 44, montrent que l'accélération de la vitesse de réduction du bleu de méthylène par le lait en présence des sérums est d'autant plus appréciable, que la quantité de sérum ajoutée, a été plus importante.

Influence de divers sérums thérapeutiques

L'addition aux milieux réagissants de sérums thérapeutiques de l'institut Pasteur accélère dans tous les cas la réduction du bleu de méthylène par le lait. Dans le tableau 45 nous avons résumé les résultats obtenus et nous les avons comparés à ceux relatifs à la décoloration du bleu de méthylène par les tissus hépatiques en présence des mêmes sérums. Dans ce

tableau les sérums ont été rangés par ordre croissant d'activité accélératrice. Il est curieux de constater que dans les deux séries d'expériences, d'une part sur les tissus animaux et d'autre part sur le lait, cet ordre a été trouvé le même.

TABLEAU 45

Température 17°

**Influence de divers sérums thérapeutiques
sur la réduction du bleu de méthylène par le lait
et par les tissus hépatiques**

Sérums ajoutés.	Durées de réduction	
	avec les tissus hépatiques.	avec le lait
Sérum antidiphthérique	2 h. 10	38 minutes
Sérum antitétanique	1 h. 45	36 »
Sérum antistreptococcique	1 h. 40	35 »
Sérum antiméningococcique . . .	1 h. 35	35 »
Sérum antigangréneux	1 h. 33	34 »
Sérum antipneumococcique . . .	1 h. 30	33 »
Sérum antidysentérique	1 h. 30	32 »
Témoins sans addition de sérum.	2 h. 44	40 »

Influence de quelques sérums pathologiques

Les résultats exposés dans le tableau 46 sont relatifs à l'influence sur le phénomène, de quelques sérums de malades, cancéreux, syphilitiques, dont nous avons pu disposer.

TABLEAU 46

Température 17°

**Influence de quelques sérums pathologiques
sur la réduction du bleu de méthylène par le lait**

Sérums ajoutés.	Durées de réduction.
Sérum de syphilitique n° 1	35 minutes
Sérum de syphilitique n° 2	35 »
Sérum de syphilitique n° 3	30 »
Sérum de cancéreux	36 »
Sérum de cheval	32 »
Témoins sans addition de sérum	40 »

On voit que, comme dans les expériences correspondantes relatives à la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux, ces divers sérums possèdent une activité accélératrice.

Nous n'avons pas eu la possibilité d'entreprendre une étude complète de cette activité car nous n'avons pu disposer d'un nombre suffisant de sérums pathologiques.

**Influence des substances salines
en solution dans le sérum
sur la durée de réduction du bleu de méthylène
par le lait**

Nous avons étudié l'influence sur la réduction du bleu de méthylène par le lait, d'une solution dont

nous avons antérieurement indiqué la composition, contenant, et en mêmes proportions, les substances salines existant dans un sérum humain normal. Nous avons constaté que l'action accélératrice de cette solution saline est très voisine de celle exercée par un sérum ajouté aux milieux réagissants, dans les mêmes conditions expérimentales. Ces résultats généralisent nos observations antérieures, il semble assez naturel de déduire que l'action accélératrice des sérums, sur la réduction du bleu de méthylène par le lait ou par le tissu hépatique semble tenir en majeure partie du moins, à l'influence des substances salines qu'ils contiennent normalement en solution.

Le tableau 47, rend compte des résultats obtenus.

TABLEAU 47

Température 17°

**Influence sur le phénomène des substances salines
en dissolution dans le sérum**

Quantités de sérum ou de solution saline.	Durées de réduction.
1 cm ³ solution saline	11 minutes
2 cm ³ solution saline	20 »
3 cm ³ solution saline	16 »
1 cm ³ sérum de cheval	21 »
2 cm ³ sérum de cheval	18 »
3 cm ³ sérum de cheval	17 »
Témoins	32 »

CONCLUSIONS

1°) Dans ce travail nous nous sommes proposé d'étudier, du point de vue physico-chimique, quelques unes des particularités que présente la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux ou par le lait, avec l'espoir que les résultats ainsi établis, pourront peut-être se relier aux recherches effectuées par M. le Professeur Lasseur et ses collaborateurs sur la réduction de différents colorants par les bactéries en fonction du P H.

La réduction par les tissus animaux a été étudiée principalement sur du tissu hépatique provenant le plus souvent de foie de porc et pris à l'état de macération dans la glycérine. La réduction du bleu de méthylène a été appréciée par la durée de décoloration d'un mélange comprenant un certain volume d'une solution de bicarbonate de soude à 5/1000, un certain volume de glycéral et quelques gouttes de solution de bleu de méthylène à 1/100, suivant une technique indiquée antérieurement par M. le Professeur Roger.

2° Après avoir vérifié les principaux résultats signalés par cet auteur, nous avons examiné l'influence qu'exerce sur la vitesse de réduction l'addition de diverses substances étrangères (antioxygènes, bases, acides, sels, eaux minérales, alcaloïdes, sérums), enfin nous avons comparé l'activité réductrice du glycérat préparé à partir de tissu hépatique frais, à celle de diverses préparations opothérapiques à base de foie.

3°) Nous avons constaté que les substances antioxygènes utilisées : camphre, salicylate de méthyle, soufre, phénol, resorcine, hydroquinone, gaïacol, cyanure de mercure, salicylate de soude, tanin, entraînent une diminution de la vitesse de réduction du bleu de méthylène par le tissu hépatique variant avec la concentration et avec la nature de la substance antioxygène.

L'action de ces substances se manifestant ainsi sur des phénomènes d'oxydation indirecte pourrait constituer une généralisation de la propriété antioxygène signalée par Ch. Moureu et Ch. Dufraisse dans le cas des oxydations directes.

4°) La réduction du bleu de méthylène par le tissu hépatique est accélérée par les bases et retardée par les acides, l'action accélératrice ou retardatrice augmente dans les deux cas avec la concentration de la base ou de l'acide.

5° L'influence des solutions salines sur le phénomène dépend principalement de leur concentration en ions H, le temps nécessaire à la réduction diminuant à mesure que croît le coefficient P H en ions H.

La concentration en ions H intervient également dans l'action des eaux minérales, sur la vitesse de décoloration du bleu de méthylène par le tissu hépatique.

L'influence de cette concentration peut d'ailleurs être compliquée ou même masquée complètement par celle d'autres constituants des eaux minérales principalement l'hydrogène sulfuré et les sulfures.

6° Tous les alcaloïdes dont nous avons pu disposer : théobromine, azotate de pilocarpine, sulfate de strychnine, azotate d'aconitine, chlorhydrate d'émétine, sulfate de spartéine, chlorhydrate de morphine, chlorhydrate de cocaïne, retardent la décoloration du bleu de méthylène.

7° Les divers sérums normaux pathologiques et thérapeutiques ne peuvent à eux seuls décolorer le bleu de méthylène. Mais ils accélèrent la décoloration du bleu de méthylène par les tissus hépatiques, la vitesse de réduction allant en augmentant avec la concentration sous laquelle on les introduit. Une solution des divers sels contenus dans le sérum normal, pris sous les mêmes concentrations, produit une action comparable.

8° L'étude que nous avons faite de diverses préparations opothérapiques d'usage courant en pharmacie, nous a montré que, dans tous les cas, l'activité réductrice de ces produits vis à vis du bleu de méthylène est moindre que celle des extraits glycéринés préparés à froid. Les poudres de foie ont les propriétés réductrices les plus accentuées.

Viennent ensuite les extraits buvables liquides et non injectables, quant aux produits injectables et aux produits buvables déprotéïnés et délipidés, ils ne possèdent plus aucune activité réductrice appréciable.

9° La réduction du bleu de méthylène se produit aussi par le lait frais en présence d'aldéhyde formique à une température variant de 35 à 40°. Nous avons effectué sur ce phénomène une étude analogue à celle à laquelle nous nous étions livré à propos des tissus hépatiques.

Nous avons ainsi constaté que la vitesse de réduction est diminuée par la présence d'antioxygènes et d'acides, accélérée par les bases et les sérums, modifiée par une variation de la concentration en ions H, dans le même sens que la réduction du bleu de méthylène par le tissu hépatique.

Nous avons seulement constaté quelques divergences en ce qui concerne l'influence des alcaloïdes sur le phénomène, en présence de bicarbonate de soude,

pouvant tenir à la sensibilité des alcaloïdes vis à vis des solutions basiques.

Dans l'ensemble, la réduction du bleu de méthylène par le lait, en présence de formol réagit de la même manière à l'addition de substances étrangères que la réduction du bleu de méthylène par le tissu hépatique, et il paraît assez naturel d'admettre que les deux phénomènes s'effectuent par des mécanismes physico-chimiques comparables.

VU ET BON A IMPRIMER :

Nancy, le 23 Mars 1933.

Le Doyen :

P. SEYOT.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 25 Mars 1933.

Le Recteur de l'Université,

Président du Conseil de l'Université :

L. BRUNTZ.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	11
--------------------	----

Première Partie,

CHAPITRE PREMIER. — <i>Exposé des recherches antérieures</i>	17
--	----

Travaux de De Rey-Pailhade	17
----------------------------------	----

Travaux de Gola Heffter et Arnold	18
---	----

Isolement et constitution du glutathion.....	20
--	----

Répartition du glutathion dans les organes vivants	24
--	----

Travaux de M. le Professeur Roger.....	25
--	----

Travaux de M. Jh. Vallot	37
--------------------------------	----

Réduction du bleu de méthylène par les tissus végétaux	39
--	----

Travaux de M. le Professeur Lasseur.....	40
--	----

CHAPITRE II. — <i>Influence des substances antioxygènes sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux</i>	43
--	----

Objet de ce chapitre et méthodes utilisées..	43
--	----

Résultat des expériences	44
--------------------------------	----

Influence de la concentration des substances antioxygènes	49
---	----

Interprétation des résultats	51
------------------------------------	----

Action des antithermiques	52
---------------------------------	----

CHAPITRE III. — <i>Influence des acides et des bases sur la réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux</i>	
Action des eaux minérales sur le phénomène	63
CHAPITRE IV. — <i>Action des sels sur les phénomènes</i>	59
CHAPITRE V. — <i>Action des alcaloïdes</i>	65
CHAPITRE VI. — <i>Influence de divers sérums</i>	67
Influence des substances salines en dissolution dans le sérum, sur la durée de réduction du bleu de méthylène par les tissus animaux	75
CHAPITRE VII. — <i>Réduction du bleu de méthylène par les produits opothérapiques à base de foie</i>	79
Remarque au sujet de l'utilisation possible de la réaction pour l'essai qualitatif des produits opothérapiques à base de foie ..	83

Deuxième Partie.

CHAPITRE PREMIER. — <i>Exposé des recherches antérieures sur la réduction du bleu de méthylène par le lait</i>	87
Hypothèses concernant le mécanisme de la réaction	89
CHAPITRE II. — <i>Méthode employée. — Influence des substances antioxygènes</i>	93
CHAPITRE III. — <i>Action des acides et des bases</i>	97
CHAPITRE IV. — <i>Influence des sels et des eaux minérales</i>	101
Travaux de MM. Lœper, A. Mougeot et V. Aubertot	103
CHAPITRE V. — <i>Action des alcaloïdes</i>	105
CHAPITRE VI. — <i>Influence des sérums sur la réduction du bleu de méthylène par le lait</i>	109

Influence de divers sérums thérapeutiques.	110
Influence de quelques sérums pathologiques.	111
Influence des substances salines en solution dans le sérum	112
CONCLUSIONS	115

IMPRIMERIE G. SUBERVIE - RODEZ
